

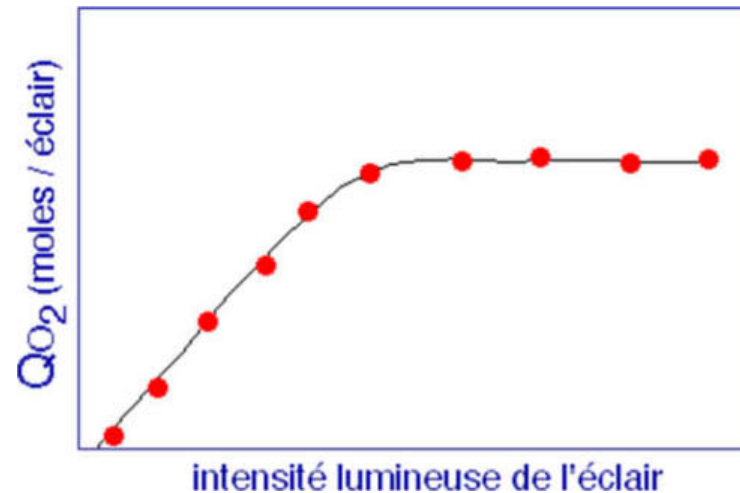
1 - Notion d'unité photosynthétique

Les pigments photosynthétiques impliqués dans le dégagement d'oxygène fonctionnent-ils séparément ou sont-ils associés dans des unités comprenant un grand nombre de molécules de chlorophylle qui coopèrent ensemble ?

Expérience d'Emerson et Arnold

Emerson et Arnold mesurent la production d'oxygène émise par des éclairs lumineux très brefs (inférieurs à 1 ms) envoyés en rafales d'une dizaine de secondes et d'intensité variable. La durée très brève de l'éclair laisse supposer que l'appareil photosynthétique conduisant à la libération de O_2 n'est excité qu'une fois pour chaque éclair.

Ils mesurent donc la production d'oxygène associée à une rafale puis ils expriment cette production par éclair ($QO_2/\text{éclair}$) en moles $O_2/\text{éclair}$.



Mise en évidence de la notion d'unité
photosynthétique.

Mesure de la quantité d'oxygène émise par éclair
(QO_2) par des chlorelles contenant Qch moles de
chlorophylles en fonction de l'intensité de chaque
éclair).

Naturellement la production de O_2 varie selon l'intensité des éclairs.

La courbe montrant QO_2 émise par éclair en fonction de l'intensité de l'éclair indique une valeur maximale de production d'oxygène (QO_2 maximum).

Cette quantité peut être rapportée à la quantité de chlorophylles présentes dans le matériel (Qchl). La valeur du rapport $Qchl/QO_2$ qu'ils obtiennent est d'environ 2500, donc environ 2500 molécules de chlorophylles sont impliquées dans la libération d'une molécule de O_2 . Il y a donc une unité photosynthétique permettant l'émission d'une molécule de O_2 qui comprend un ensemble d'environ 2500 molécules de chlorophylles (il a donc une association d'un grand nombre de chlorophylles a sein d'une unité photosynthétique).

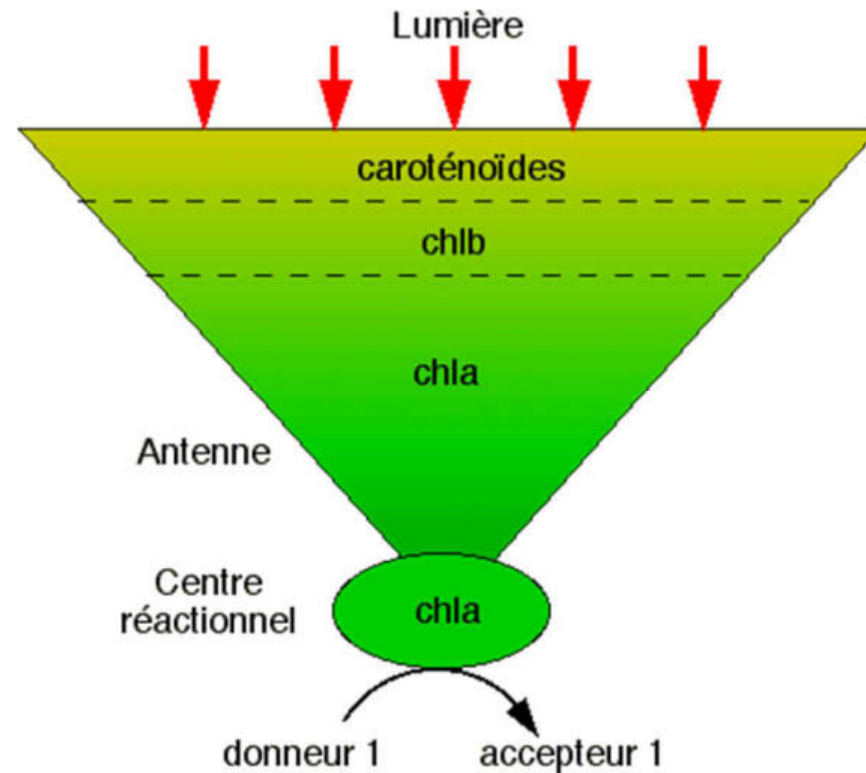
2 - Antenne et centre réactionnel

Les pigments présents dans les unités photosynthétiques forment une antenne qui collecte l'énergie lumineuse. Cette énergie est ensuite transmise au centre réactionnel qui contient une molécule de chlorophylle a particulière. Cette molécule piège cède alors un électron à un accepteur qui passe à l'état réduit. A ce stade l'énergie lumineuse est convertie en énergie chimique.

Le rôle de l'antenne peut être résumé simplement de la manière suivante : il y a en effet peu de chance qu'un photon touche directement la molécule de chlorophylle spécialisée du centre réactionnel. Par contre, si le flux de photons atteint simultanément un grand nombre de molécules de pigments et que cette information

énergétique est transmise jusqu'à la molécule cible du centre réactionnel, alors, le rendement de la capture au niveau du centre réactionnel sera nettement amélioré. C'est ce qui se passe, et l'image d'une antenne parabolique permet de bien comprendre la capture de l'énergie.

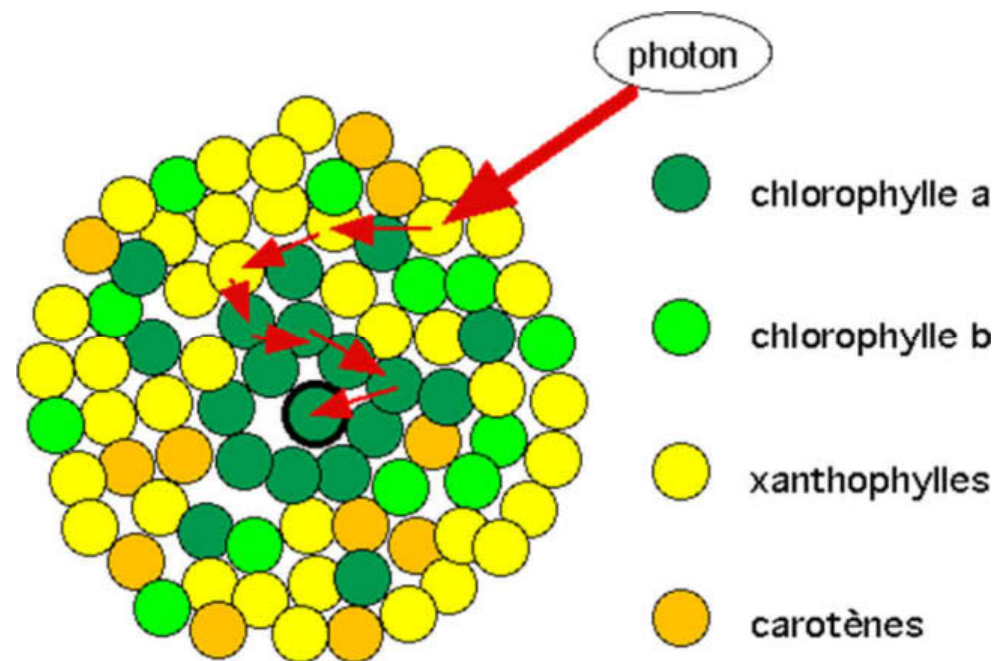
Voici deux représentations très schématiques d'une antenne :



Représentation schématique d'une antenne de photosystème (schéma 1).

L'antenne est schématisée par un entonnoir qui draine l'énergie

des photons reçus par de nombreuses molécules de pigments jusqu'à une molécule de chlorophylle a correspondant au centre réactionnel. L'électron cédé par la chlorophylle à un accepteur primaire lui est rendu par un donneur primaire.



Représentation schématique d'une antenne de photosystème (schéma 2).

Cette représentation montre que de très nombreuses molécules de pigments peuvent être excitées par les photons et qu'elles peuvent transmettre l'énergie reçue, par résonance à la molécule

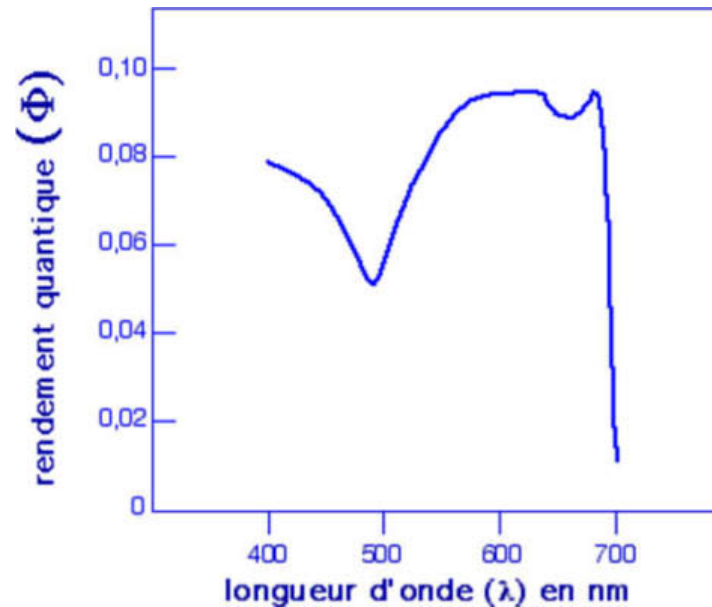
de chlorophylle a du centre réactionnel

3 - Existence de deux photosystèmes (Effet Emerson et Lewis, 1943)

Sur des Chlorelles, en utilisant des conditions isoquantiques (même flux de photons) et une concentration de cellules très élevée pour absorber toute la lumière incidente (flux de photons limitant), ils mesurent l'action de radiations monochromatiques sur l'activité photosynthétique et observent que les radiations rouge sombre (supérieur à 685 nm) pourtant captées par les chlorophylles n'ont aucune efficacité sur la production d'oxygène.

Le rendement quantique, c'est-à-dire le rapport entre le nombre de molécules de O₂ émises et le nombre de photons absorbés diminue alors considérablement pour ce domaine spectral. Cette décroissance est appelée "chute dans le rouge".

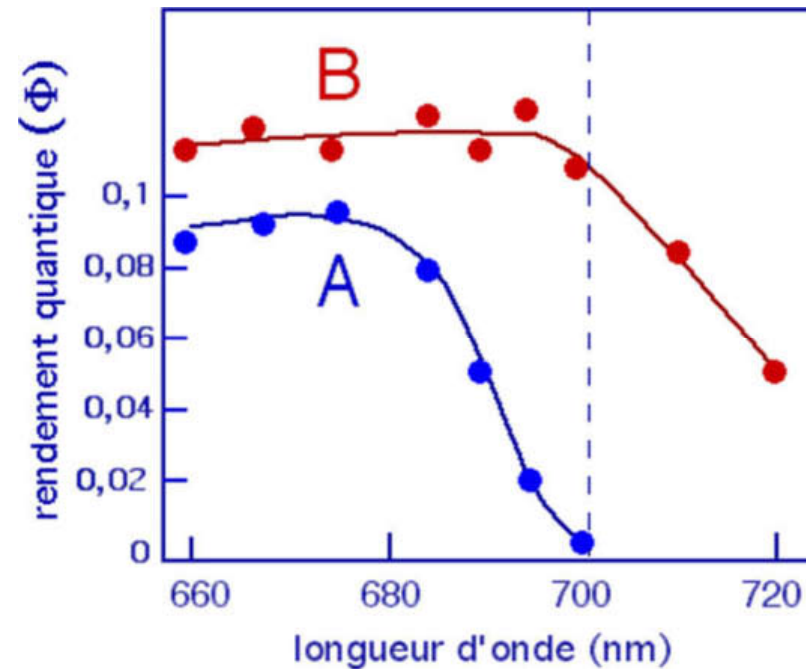
$\Phi =$	nombre de moles de O ₂ dégagées (ou de CO ₂ absorbées)
	nombre de moles de <i>photons</i> absorbées



Rendement quantique en fonction de la longueur d'onde.

On observe une chute brutale dans le rouge.

Emerson et Lewis montrent ensuite que la décroissance du rendement quantique dans le rouge est supprimée en ajoutant à la lumière rouge sombre une radiation de plus courte longueur d'onde.



Rendement quantique (exprimé en production d'oxygène) en fonction de la longueur d'onde d'un éclairage monochromatique.

A : longueur d'onde variable (de 660 à 720 nm)

B : longueur d'onde variable (de 660 à 720 nm) + une radiation monochromatique fixe à 650 nm

On observe une augmentation du rendement quantique dans le domaine des grandes longueurs d'onde ($>700\text{nm}$) sous l'action d'une seconde radiation fixe de 650nm.

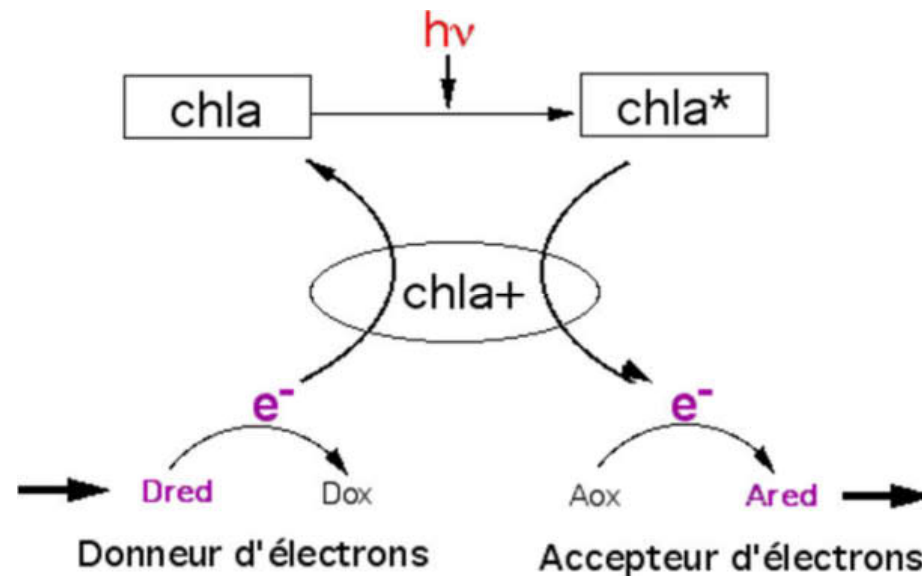
Cette expérience suggère l'existence de deux systèmes pigmentaires ou photosystèmes (deux ensembles de pigments).

- l'un qui n'absorbe pas la lumière au-delà de 680 nm et qui est associé au dégagement de O₂.
- l'autre qui absorbe au-delà de 680 nm et qui ne dégage pas de O₂.

L'effet synergique observé suggère que ces deux systèmes coopèrent en lumière blanche pour réaliser des réactions d'oxydo-réduction conduisant à l'émission d'oxygène.

4 - fonctionnement d'un centre réactionnel

Les réactions d'oxydo-réduction ont leur origine dans les centres réactionnels des photosystèmes. Le principe de fonctionnement est le même pour le photosystème qui dégage de l'oxygène et celui qui n'en dégage pas. Il peut être schématisé comme suit :



Représentation schématique du fonctionnement d'un photosystème. Cette représentation s'applique aussi bien aux photosystèmes I et II. La nature des donneurs et des accepteurs seront évidemment différentes.

La molécule de chlorophylle a spécialisée, associée au centre réactionnel de chaque photosystème, après avoir été excitée par la lumière, se désactive par voie photochimique. L'électron arraché à la molécule de chlorophylle est alors cédé à un accepteur (A) présent dans le voisinage immédiat de la molécule de chlorophylle. Il y a séparation de charge et apparition de molécule de chlorophylle a oxydée (Chl^+). La molécule de chlorophylle est alors immédiatement régénérée (réduite) grâce à un donneur d'électrons (D). Ce mécanisme s'applique aussi bien aux photosystèmes I et II. La nature des donneurs et des accepteurs est naturellement différente. Dans le cas du photosystème II, le donneur d'électrons est la molécule d'eau, dont l'oxydation s'accompagne d'un dégagement d'oxygène (cf. Photosystème II).

Structure du PSII

Le PSII comprend trois domaines protéiques.

1 - L'antenne

Elle est constituée de deux parties :

- une antenne périphérique ou distale renferme la moitié de la chlorophylle et le tiers des protéines du thylakoïde. Elle est constituée de protéines CAB auxquelles sont associées des molécules de chlorophylle a, chlorophylle b et des carotènes. C'est l'antenne majeure (ou LHCI pour "Light Harvesting Complexe II"). Dans certaines conditions d'excès d'énergie lumineuse, cette antenne se dissocie et migre vers le photosystème I (antenne mobile).

- une seconde antenne interne ou proximale est associée au "cœur" du PSII. Elle est constituée par des protéines (CP43 et CP47) auxquelles sont associées de la chlorophylle a et des carotènes. La chlorophylle b est absente de cette antenne.

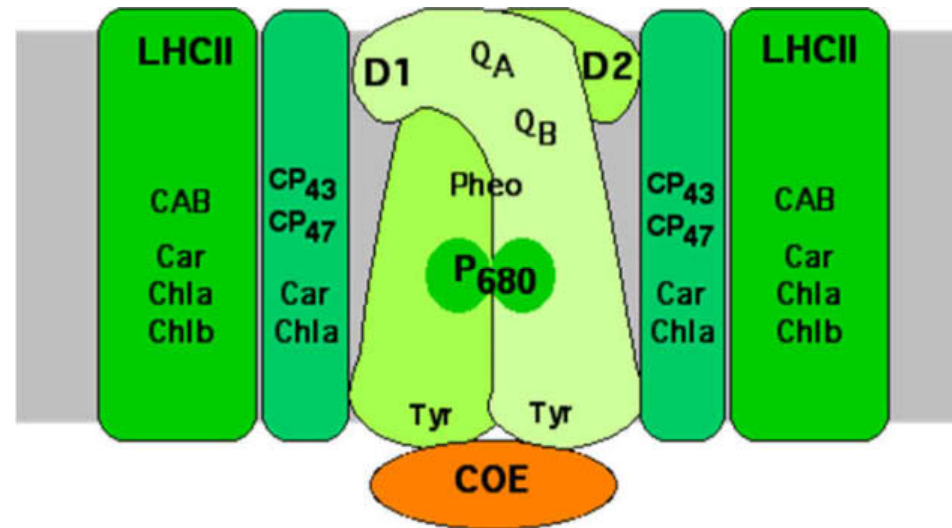
2 - Le centre réactionnel

Il est constitué de deux sous-unités majeures : les protéines D1 et D2. Ce centre renferme :

- un dimère de chlorophylle a qui absorbe à 680 nm correspondant à la chlorophylle "piège" appelée P680, qui, après excitation, cède un électron à une phéophytine (molécule de chlorophylle dans laquelle le Mg est remplacé par des protons).
- des centres dits fer-soufre (Fe-S) qui jouent le rôle de transporteurs d'électrons (un seul électron est transporté par le centre Fe-S).
- un cytochrome b559 (qui n'intervient pas directement dans le trajet des électrons mais est impliqué dans la dissipation thermique de l'excès d'énergie lumineuse en cas de surexcitation des chlorophylles).
- deux molécules de plastoquinone liées dites QA et QB (les quinones sont des transporteurs de deux e⁻).

3 - Le complexe d'oxydation de l'eau ou OEC (pour "Oxygen Evolving Complex") encore appelé système Z

Il est constitué de différentes protéines (33, 23, 16) qui font saillie dans le lumen et qui renferment du manganèse (Mn). Quatre atomes de Mn sont présents par centre qui renferme également du Ca²⁺ et du Cl⁻ comme cofacteur.



Représentation schématique du photosystème II dans la membrane du thylacoïde.

CAB: protéines de l'antenne périphérique (ou majeure), Car: carotène, Chla: chlorophylle a, Chlb: chlorophylle b, CP: protéines de l'antenne proximale, D1-D2: sous unités du centre réactionnel, LHCII: Light Harvesting Complex II (antenne majeure), OEC: Oxygen Evolving Complex, P₆₈₀: dimère de chlorophylle a (molécule piège du centre réactionnel), Pheo: phéophytine, QA-QB: Plastoquinones, Tyr: tyrosine.

Comment se réalise la transformation de l'énergie lumineuse?

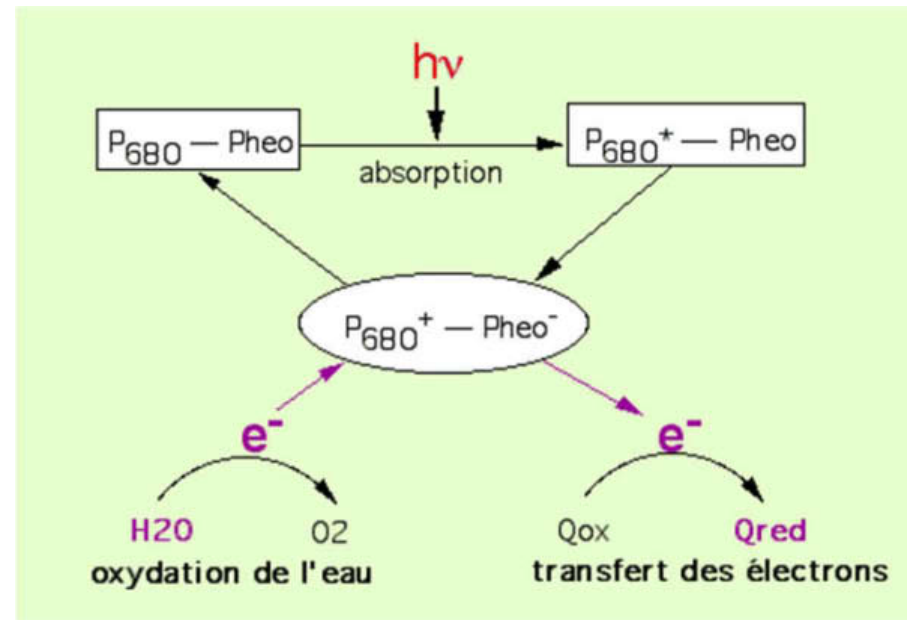
La séparation des charges

- Dans l'antenne, il y a transfert d'énergie lumineuse (par résonnance) jusqu'au centre réactionnel. Depuis les formes principales de chlorophylle a (complexe protéine-chlorophylle a) Ca669 et Ca667 (maximum d'absorption : 669 et 667 nm) et de chlorophylle b (complexe protéine-chlorophylle b) Cb642 et Cb651 (maximum d'absorption : 642 et 651 nm), vers la molécule de chlorophylle a (molécule piège) P_{680} .

Remarque 1 : le transfert d'énergie entre complexes pigmentaires se fait dans le sens des longueurs d'onde croissantes, donc d'énergie décroissante.

Remarque 2 : en pratique une excitation des chloroplastes par une radiation monochromatique à 650 nm revient à exciter quasiment exclusivement le PSII).

- Dans le centre réactionnel :
 - Il y a excitation du P_{680} qui se désactive par voie photochimique en cédant un électron à la phéophytine. Il y a séparation des charges (P_{680}^{+} - $pheo^{-}$).
 - L'électron cédé à la phéophytine est ensuite transféré via le centre Fe-S, jusqu'aux quinones QA et QB qui stockent les électrons reçus un par un et les transfèrent par deux sur l'accepteur suivant présent dans la membrane à l'extérieur du PSII : la plastoquinone (cf réaction de transfert d'électrons). La chlorophylle (P_{680}^{+}) récupère alors un électron provenant de l'oxydation de l'eau.



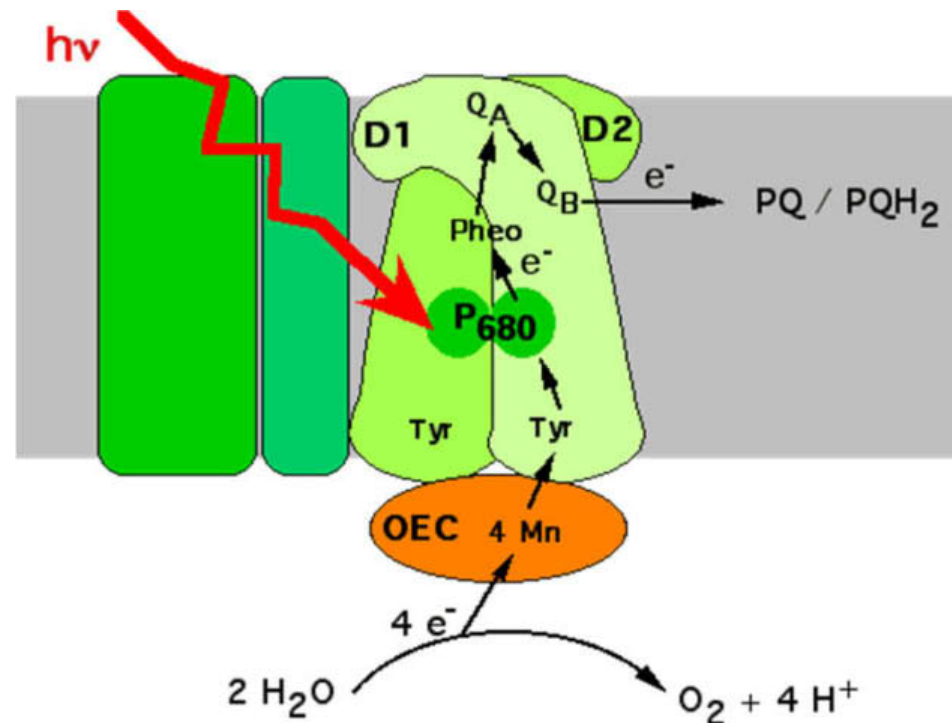
Fonctionnement simplifié du PSII.

La chlorophylle du centre réactionnel (P_{680}) est excitée par un photon (P_{680}^*). Elle donne un électron à un accepteur d'électrons (Q_{ox}) qui devient réduit (Q_{red}) et qui transmettra ces électrons le long d'une chaîne de transporteurs jusqu'à un accepteur final. Il manque alors un électron à la chlorophylle (P_{680}^+). Celle-ci est régénérée (P_{680}) en recevant un électron d'un donneur d'électron (H_2O) qui devient oxydé (O_2).

- Dans le complexe OEC (Z)
 - Le fonctionnement du complexe repose sur le changement de valence des atomes de Mn.

- Le transfert des électrons de l'eau s'effectue en une seule étape, les atomes de Mn acceptant quatre électrons à la fois.
- Le complexe cède ensuite successivement en quatre étapes les électrons emmagasinés un par un à quatre molécules de P_{680}^{+} . A chaque étape, une molécule de P_{680} est régénérée.

Fonctionnement du centre réactionnel du PSII

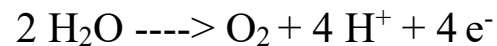


Fonctionnement du PSII en place dans la membrane du thylacoïde.
D1-D2: sous unités du centre réactionnel, OEC: Oxygen Evolving Complex, P680: dimère de chlorophylle a (molécule piège du centre

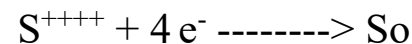
réactionnel), Pheo: phéophytine, PQ/PQH₂: Plastoquinones, QA-QB: Plastoquinones, Tyr: tyrosine.

Le système d'oxydation de l'eau ou OEC pour "oxygen evolving complexe" est étroitement associé au photosystème II. Il catalyse une réaction d'oxydation purement chimique, dans laquelle l'énergie lumineuse n'intervient pas directement. Le terme "photolyse de l'eau" autrefois utilisé est impropre.

- L'émission d'une molécule de O₂ demande l'oxydation de 2 molécules de H₂O ; il y a 4 électrons transférés.



- Il faut donc un corps S susceptible de les récupérer. Le corps S accepte donc 4 électrons à la fois.

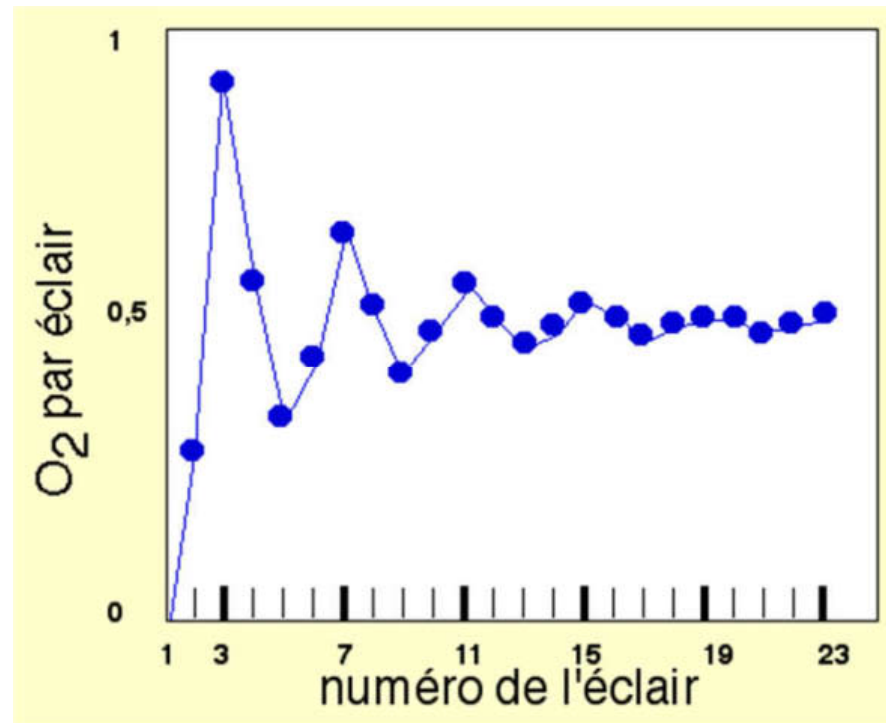


- Or la capture d'un photon libère un électron de la chlorophylle et fait apparaître une seule charge positive à la fois ; donc le corps S (qui a récupéré les électrons de l'eau et les cède aux chlorophylles) doit donc accumuler successivement 4 charges positives correspondant à l'absorption successive de 4 photons (chaque électron cédé par le corps S sert à régénérer une molécule de chlorophylle)

Expérience de Joliot, Barbieri et Chabaud, 1969

- Ces auteurs utilisent une suspension d'algues qu'ils soumettent à l'action d'éclairs brefs saturants.

- Ils enregistrent la production d'oxygène à l'aide d'une électrode à oxygène rapide. Dans les conditions utilisées, à chaque éclair très bref (de 100 ms), tous les photosystèmes sont illuminés en même temps mais chaque photosystème, donc chaque centre réactionnel, ne peut capter qu'un seul photon. Autrement dit, tous les centres réactionnels du PSII sont excités mais compte-tenu de la brièveté de l'éclair, ils ne sont excités qu'une fois.



Expérience de Joliot.

La quantité d'oxygène produit est maximum tous les quatre éclairs. Ce rythme s'amortit rapidement.

L'expérience montre une production périodique d'oxygène avec un premier pic d'émission d'oxygène au troisième éclair, puis des pics successifs tous les 4 éclairs. Le processus tend à s'amortir avec le temps.

Les réactions de transfert des électrons

1 - Le transfert acyclique des électrons

Les réactions de transfert des électrons entre l'eau (donneur d'électrons dans la photosynthèse oxygénique) et le NADP^+ (accepteur de deux électrons et d'un proton) font intervenir les réactions photochimiques (répartition des charges) qui s'effectuent à la lumière au niveau des centres réactionnels des deux photosystèmes et des molécules de chlorophylle piégées P_{680} , P_{700} , ainsi qu'une série de transporteurs d'électrons qui permettent un fonctionnement en série des photosystèmes. Il s'agit du transfert d'électrons acyclique. Il existe également un transfert d'électrons cyclique autour du PSI qui ne produit pas de NADPH.

Finalement, une synthèse d'ATP s'est couplée à ces transferts d'électrons acyclique et cyclique (voir plus loin).

Le schéma en Z est une représentation de ces transferts d'électrons, montrant en abscisse la succession des différents couples redox concernés (exemple : $\text{O}_2/\text{H}_2\text{O}$, $\text{P}_{680}/\text{P}_{680}^+$, $\text{NADP}^+/\text{NADPH}$...) et en ordonnée, la valeur du potentiel d'oxydo-réduction ($E'o$).

Sachant qu'un couple a une tendance d'autant plus grande à céder ses électrons que son $E'o$ est négatif, et qu'un transfert d'électrons entre deux couples redox s'effectue spontanément dans le sens croissant des potentiels red-ox, la représentation du schéma en Z ($E'o < 0$ vers le haut, $E'o > 0$ vers le bas) indique immédiatement le sens spontané (trajet descendant) et non spontané (trajet ascendant) des électrons entre

H₂O et NADP⁺.

Les électrons provenant du système d'oxydation de l'eau sont transférés jusqu'à un accepteur final le NADP⁺ par l'intermédiaire des centres réactionnels des deux photosystèmes et d'une série de transporteurs d'électrons.

Le tableau suivant donne les valeurs du E'o des principaux couples redox impliqués dans le transfert des électrons.

Couple redox	E'o (V)
O ₂ / H ₂ O	+ 0,82
P ₆₈₀ / P ₆₈₀ ⁺	+ 0,9
P ₆₈₀ [*] /P ₆₈₀	- 0,8
Pheo (red/ox)	- 0,6
QA-QB(red/ox)	- 0,2
PQ (red/ox)	0
b6f (red/ox)	- 0,2 et + 0,2
P ₇₀₀ / P ₇₀₀ ⁺	+ 0,4
P ₇₀₀ [*] / P ₇₀₀	-1,3
Ao (red/ox)	-1,0
Fd (red/ox)	- 0,42

NADP ⁺ / NADPH	-0,32
---------------------------	-------

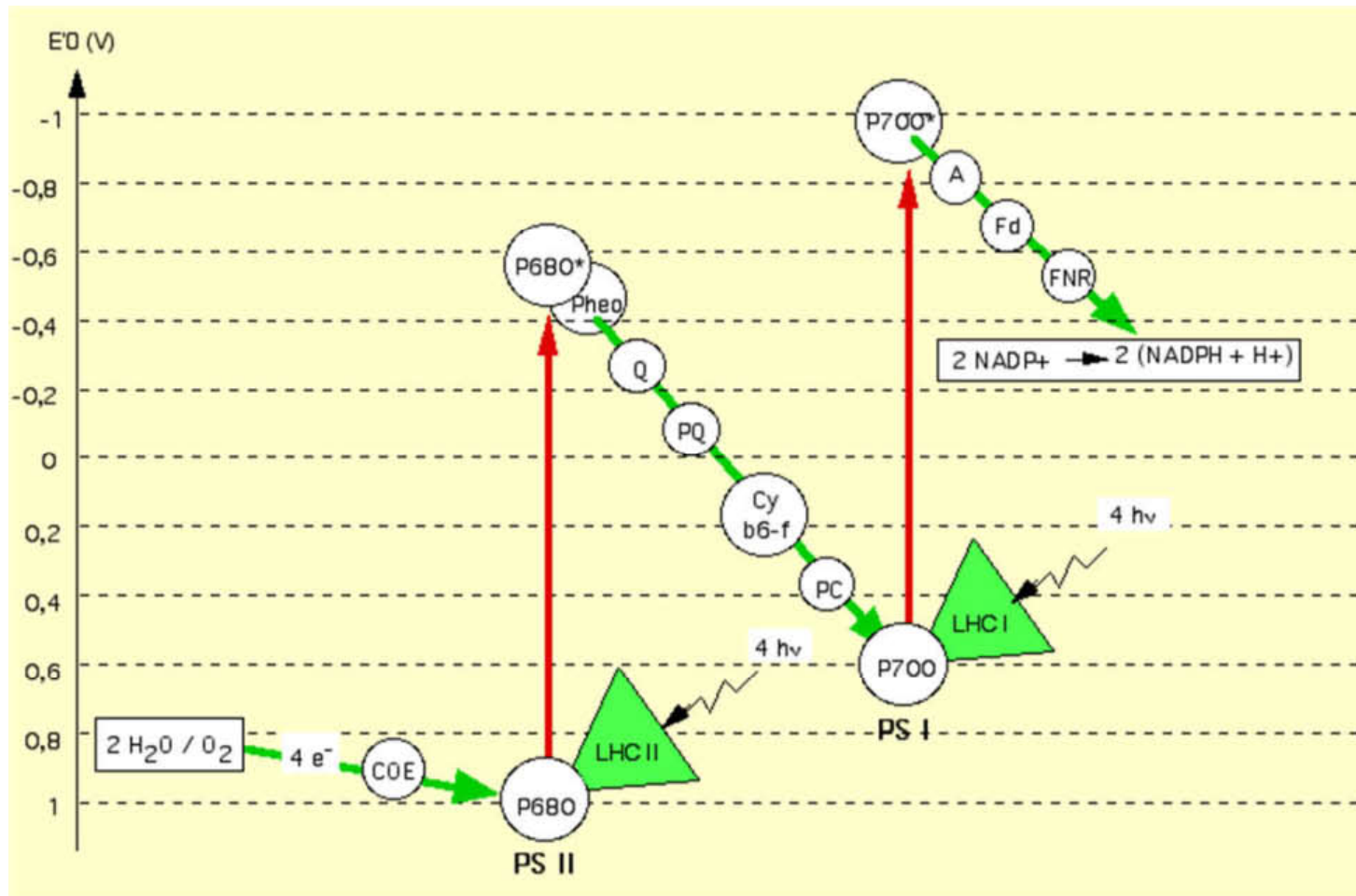


Schéma "en Z", transfert acyclique des électrons.

Par le jeu intégré des deux photosystèmes, le transfert des électrons se réalise de l'eau à

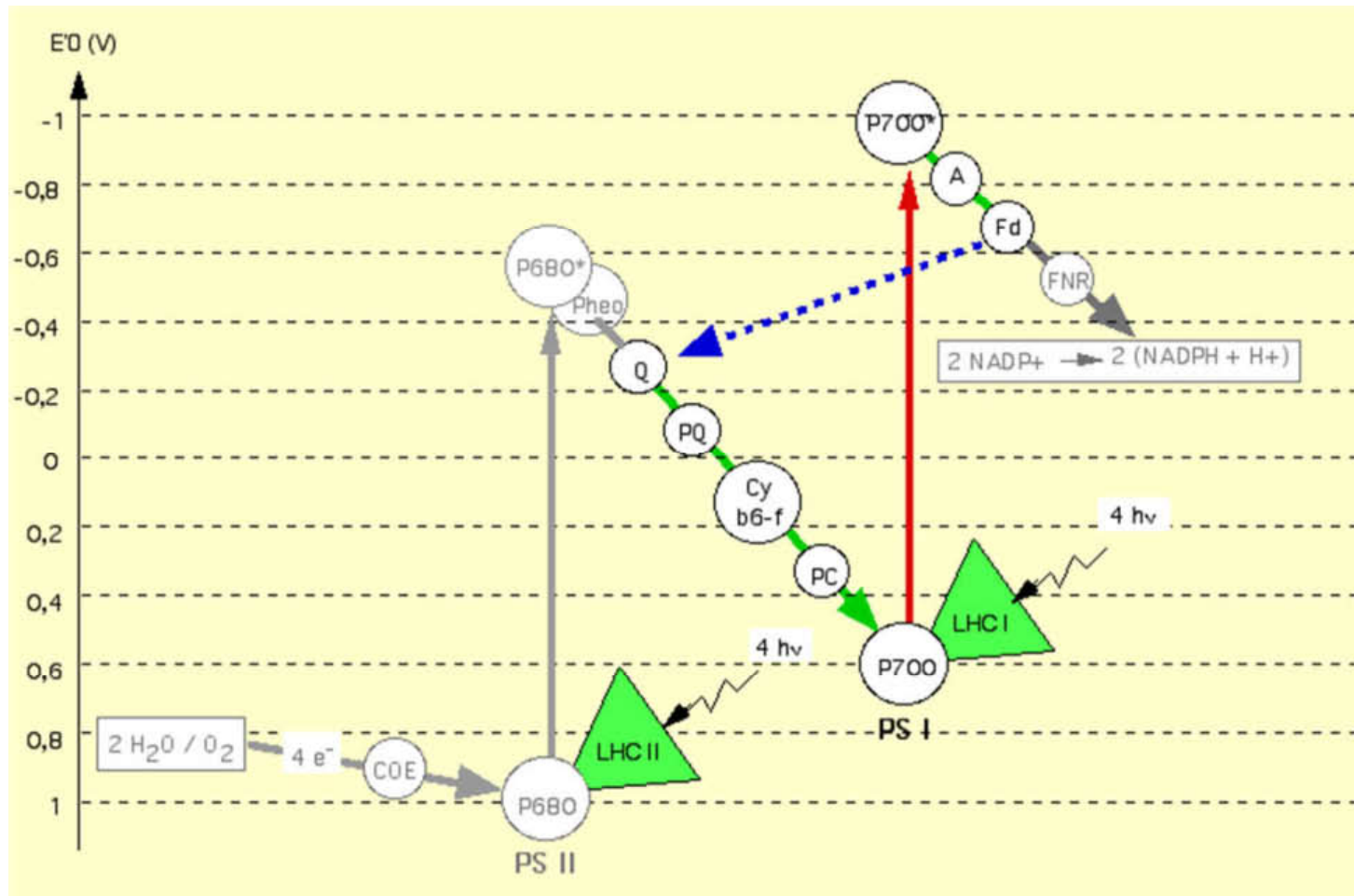
l'accepteur final, le NADP⁺.

A: accepteur du PSI, Cy b6-f: complexe protéique cytochromes, FD: ferredoxine, FNR: Ferredoxine NADP Réductase, LHCI: Light Harvesting ComplexI (antenne du PSI), LHCII: Light Harvesting ComplexII (antenne majeure du PSII), OEC: Oxygen Evolving Complex, P₆₈₀: Molécule piège de chlorophylle du PSII, P₇₀₀: Molécule piège de chlorophylle du PSI, PC: plastocyanine, Pheo: pheophytine, PSI: Photosystème I, PSII: photosystème II, PQ: Plastoquinones, Q: Quinones.

Si l'on considère l'ensemble des couples redox, le trajet des électrons se réalise depuis le donneur H₂O jusqu'à l'accepteur final du NADP⁺ grâce au fonctionnement coordonné des deux photosystèmes qui nécessite l'excitation par la lumière du P₆₈₀ et du P₇₀₀. En revanche le transfert d'électrons entre les 2 photosystèmes s'effectue spontanément par l'intermédiaire du complexe b6f.

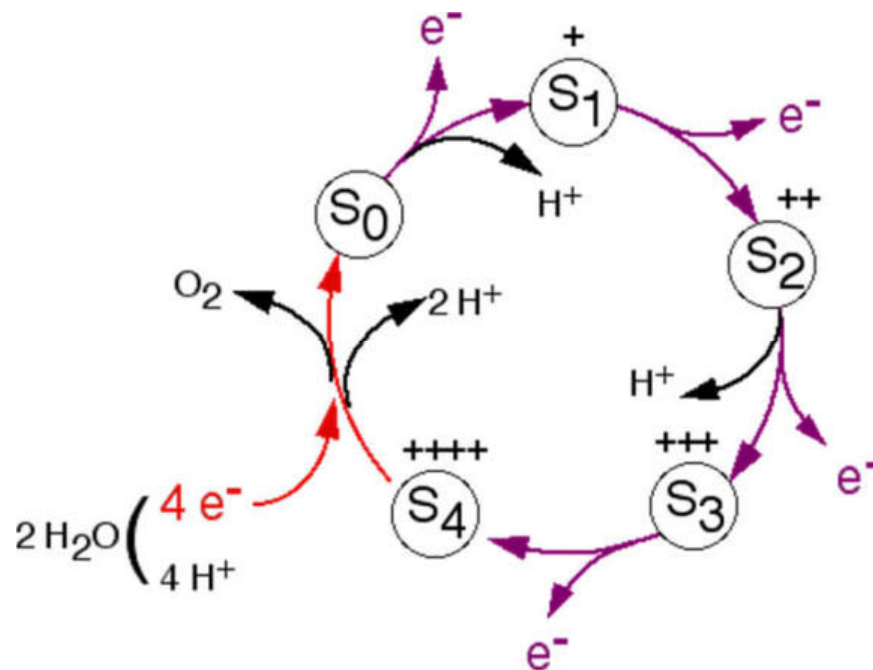
2 - Le transfert cyclique des électrons

Dans certaines conditions, le transfert peut se réaliser de manière cyclique entre le PSI et le complexe PQ / cytochromes (b6f). Il ne fait alors pas intervenir le PSII. Il n'y a donc pas de production d'oxygène et pas de transfert d'électrons sur le NADP⁺. Ce système permet en fait de déconnecter la synthèse de NADPH et la synthèse de l'ATP qui ne peut être représenté sur ce schéma mais seulement "préssenti" si l'on considère le trajet des électrons commun aux deux voies acyclique et cyclique. En effet, le trajet des électrons entre le pool des plastoquinones (PQ) et la plastocyanine (PC) via le complexe cytochrome b6f est exergonique. L'étude de la photophosphorylation montre que l'énergie libérée à cet endroit est convertie pour permettre la synthèse de l'ATP (cf. comment l'ATP est synthétisé).

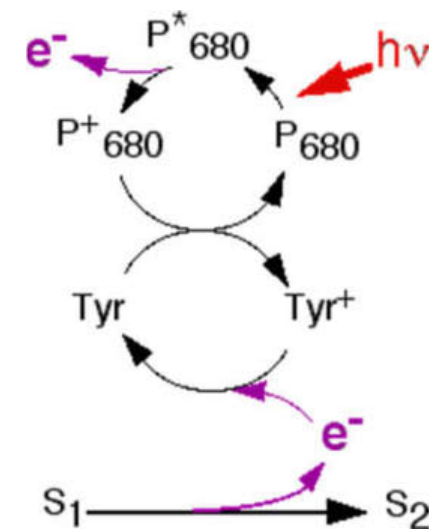


Transfert cyclique de électrons autour du PSI.

Le transfert des électrons ne fait pas intervenir le photosystème II. Il n'y a donc pas d'oxydation de l'eau ni de réduction du NADP^+ .

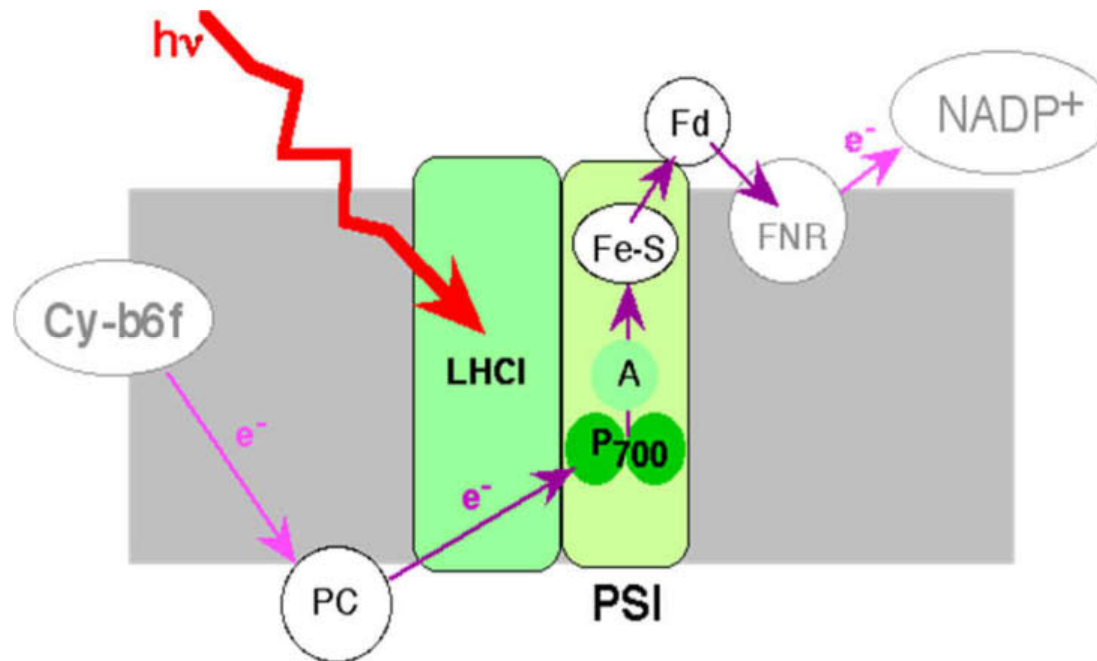


Les 5 états du complexe S.
Chaque étape (de S₀ à S₄) permet le transfert d'un électron.
La régénération de S₀ à partir de S₄ se réalise grâce aux 4 électrons venant de l'oxydation de l'eau.



Régénération du P₆₈₀ : chaque électron émis au cours de ce cycle lors de la transition entre deux états S (ici S₁/S₂) permet la régénération d'une molécule de chlorophylle.

Il est proposé que le système d'oxydation de l'eau passe par 5 étapes successives de S_0 à S_4 . Le transfert des électrons de l'eau ($2 H_2O$) s'effectue en une étape : le complexe emmagasine donc $4 e^-$ (état S_0). Le complexe cède ensuite ces électrons successivement 1 à 1 en 4 étapes (S_1 , S_2 , S_3 et S_4) à quatre molécules de P_{680}^+ apparues consécutivement à l'absorption de 4 photons, ce qui régénère les 4 molécules P_{680} qui sont susceptibles d'être à nouveau excitées. Structure et fonction du PSI dans la membrane du thylacoïde

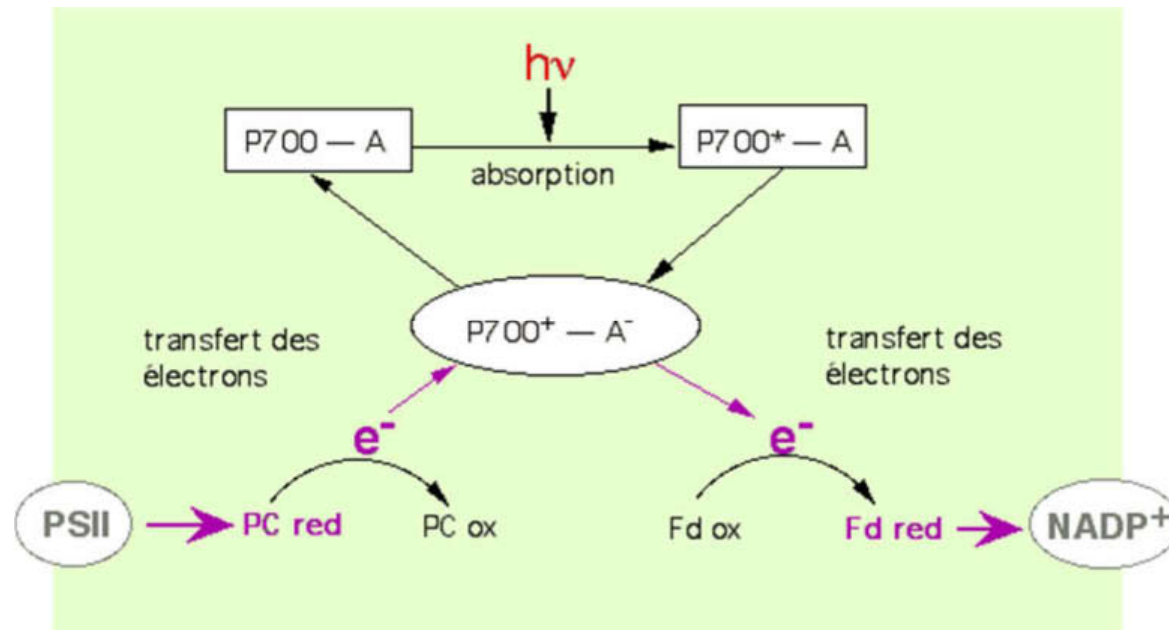


Fonctionnement du PSI en place dans la membrane du thylacoïde.

Le PSI est constitué d'une antenne collectrice de lumière (LHCI, pour light harvesting complex I) et d'un centre réactionnel. L'antenne renferme des molécules de chlorophylles a , de chlorophylles b et des caroténoides. Le centre réactionnel contient un dimère de chlorophylles a piège (P700), une molécule (A)

spécialisée dans la capture de l'électron du P700 ainsi que différents centres fer-soufre, qui jouent le rôle de transporteurs d'électrons jusqu'à l'accepteur final du PSI constitué par la ferredoxine (Fd). Après absorption de photons par l'antenne, transfert de l'énergie et excitation de la molécule de P700, le P700 se désactive par voie photochimique en cédant un électrons à la molécule A située dans son environnement immédiat. La molécule de P700 oxydée est alors régénérée grâce à la plastocyanine réduite, qui constitue le donneur primaire du PSI. Ce processus peut être schématisé comme suit :

La séparation de charges au niveau du centre réactionnel du PSI



Fonctionnement du photosystèmeI.

Le donneur d'électrons est la plastocyanine. L'accepteur primaire d'électrons du photosystèmeI est

la ferredoxine qui transmet les électrons, via la ferredoxine NADP réductase (FMR) au NADP.

La plastocyanine (donneur d'électrons du PSI) est un transporteur mobile qui reçoit ses électrons du complexe b6-f. Il faut noter que le complexe b6f reçoit lui-même les électrons soit du PSII (transport d'électrons acyclique) soit du PSI lui-même (transport d'électrons cyclique).

13 - Structure du thylakoïde



Différentes méthodes de fractionnement ont permis d'isoler les membranes des thylacoïdes puis de séparer et de caractériser 5 complexes protéiques importants. La distribution de ces complexes dans les régions accolées et non accolées de la membrane des thylacoïdes a pu être réalisée par des techniques d'immunocytochimie, de cryodécapage ou de coloration négative (voir [localisation des complexes](#))

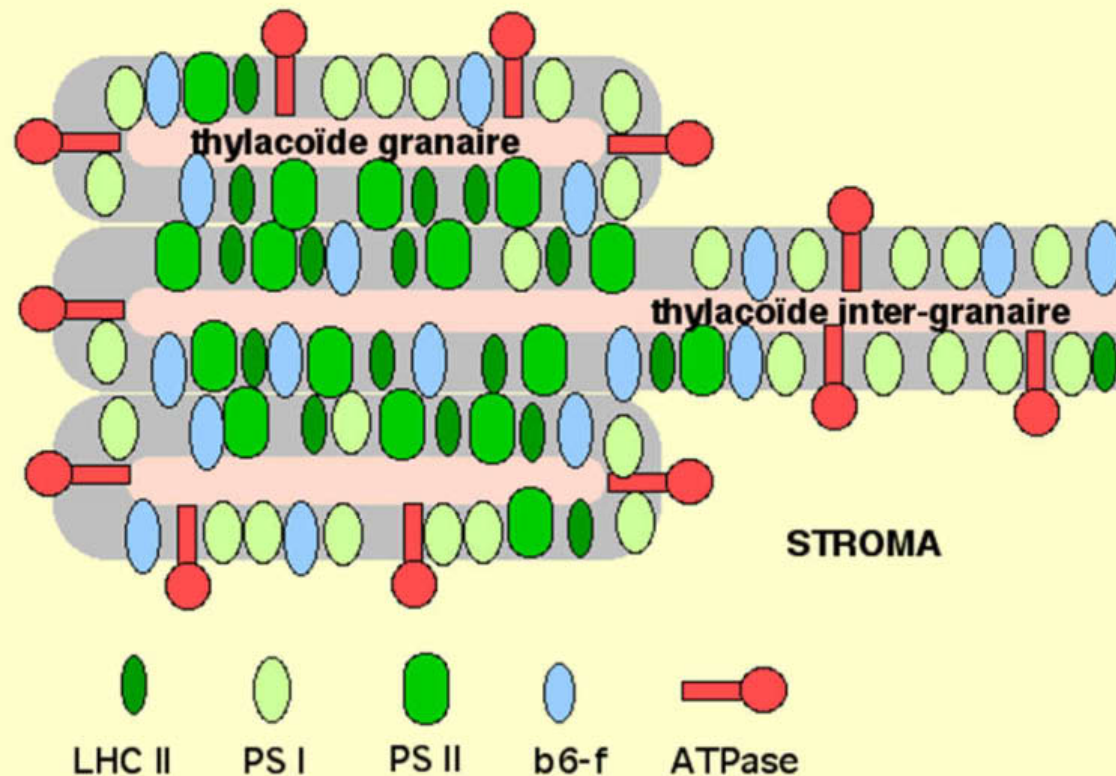
Complexes protéiques	Régions accolées des thylakoïdes	Zones non accolées en contact avec le stroma
PSI	15-20	80-85
PSII	85	15
B6f	50	50

LHCII ext	80-90	10-20
ATP synthase	0	100
Répartition des 5 complexes protéiques majeurs dans les thylacoïdes.		

- Les régions accolées sont riches en PSII.
- les régions non accolées sont riches en PSI.
- le complexe cytochromes b6-f se trouve partout.
- les ATP-synthases sont localisées uniquement dans les régions non accolées.

Il existe une continuité entre thylacoïdes granaires et intergranaires permettant la diffusion des composés comme les PQ.

L'ensemble des lumens peut être considéré comme un compartiment unique. (voir [communications inter-thylacoïdes](#))



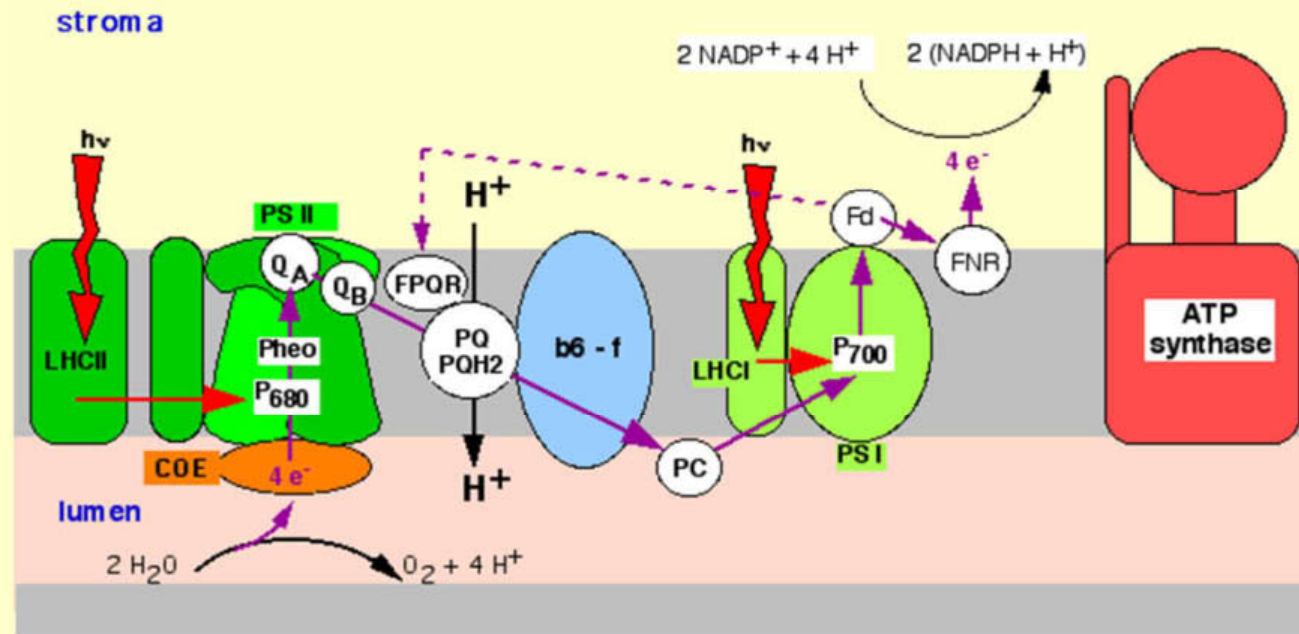
Localisation schématique des complexes protéiques dans la membrane des thylacoïdes. On observe une nette différence entre les thylacoïdes accolés (intérieur des grana) et les thylacoïdes non accolés en contact avec le stroma.

Sur un détail de ce schéma, on peut superposer le schéma en Z pour obtenir un schéma fonctionnel. Il faut ajouter un certain nombre d'intermédiaires pour que ce schéma soit fonctionnel.

Les éléments intermédiaires sont connus, les complexes protéiques majeurs ont été analysés et il est

possible de dresser une carte très détaillée du thylacoïde à la fois sur le plan structural et sur le plan fonctionnel.

On retrouve ici les différents acteurs impliqués dans le transfert des électrons de H_2O au NADPH.



Membrane du thylacoïde et transfert des électrons.

Détail du transfert coordonné des électrons dans la membrane du thylacoïde par les photosystèmes I et II, de l'oxydation de H_2O à la réduction du NADP^+ .

La stoechiométrie de la translocation des protons n'est pas indiquée, ni le couplage avec la synthèse d'ATP.

A ce transfert d'électrons est couplé un mécanisme de conservation de l'énergie qui conduit à la synthèse d'ATP.

La synthèse d'ATP dans le chloroplaste s'effectue au niveau du complexe ATP synthase (ATPase de type F ou ATPase F₁F_o) associée à la membrane du thylakoïde. L'énergie nécessaire à la synthèse de l'ATP est fournie par l'énergie libérée par transfert d'électrons photosynthétiques. Cette synthèse d'ATP dans le chloroplaste à la lumière est appelée photophosphorylation.

Le principe du couplage entre le transfert d'électrons et la synthèse d'ATP repose sur la théorie chimio osmotique émise en 1961 par P. Mitchell. Dans le cadre de cette théorie :

- l'ATP synthase est une enzyme potentiellement réversible qui fonctionne comme une pompe à protons transmembranaire (remarque importante : in vivo elle fonctionne dans le sens de la synthèse),
- la chaîne de transfert d'électrons fonctionne également comme une pompe à protons transmembranaire (pompe dite redox) qui génère une différence de potentiel électrochimique de protons (gradient de protons ou force proton motrice, voir plus loin) de part et d'autre de la membrane du thylacoïde. Cette membrane présente, par ailleurs, une faible conductance naturelle aux protons.
- la synthèse de l'ATP résulte du couplage entre ces deux pompes à protons (redox et ATP synthase). Le gradient transmembranaire de protons joue donc le rôle d'intermédiaire énergétique obligatoire entre le transfert des électrons et l'ATP synthase.

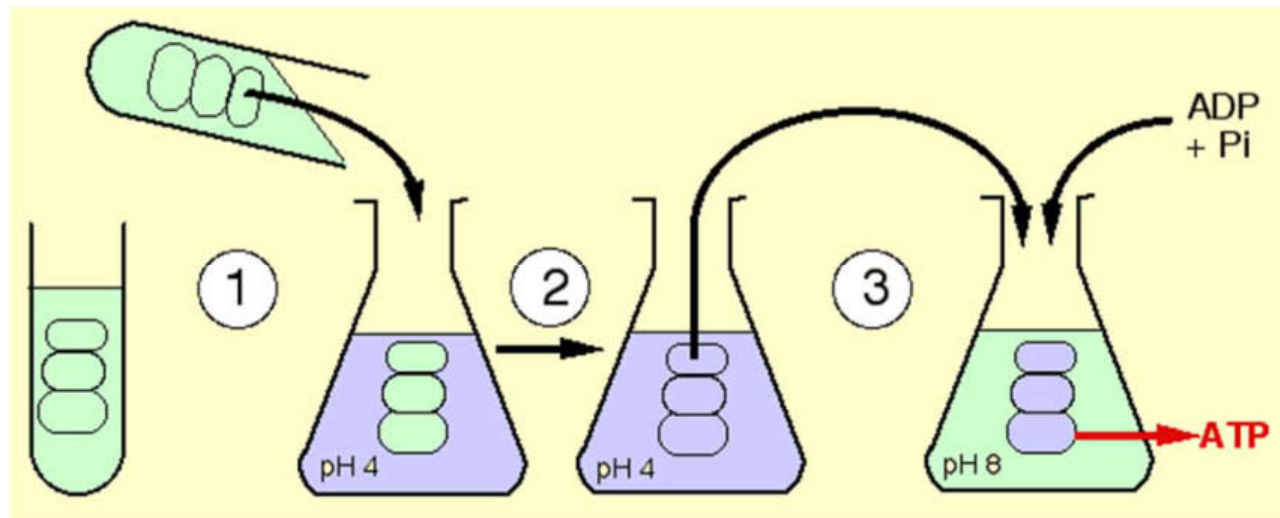
La vérification de cette théorie nécessite donc de démontrer expérimentalement que :

- l'ATP peut être synthétisé à l'obscurité par un gradient de protons artificiel que l'on impose à la membrane du thylakoïde ;
- la chaîne de transfert des électrons délocalise des protons lorsque le thylakoïde est éclairé ;
- la synthèse de l'ATP à la lumière est inhibée par des agents chimiques qui augmentent la conductance membranaire aux protons du thylakoïde (agents dits protonophores qui agissent comme découplants de la photophosphorylation).

Les expériences suivantes vérifient ces principes de base.

1 - L'ATP peut être synthétisé par un gradient de protons artificiel

Expérience "du bain acide" de Jagendorf et Uribe (1966).



Expérience "du bain acide" de Jagendorf et Uribe

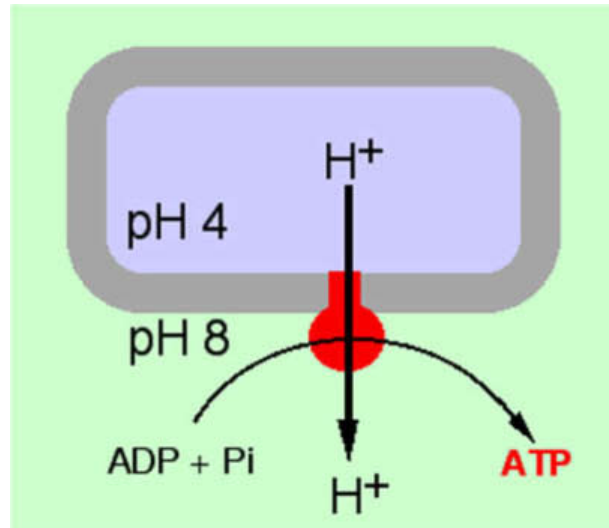
A partir d'une suspension de chloroplastes, les chloroplastes sont cassés (par choc osmotique par exemple) et les thylakoïdes sont isolés par centrifugation (le stroma a été éliminé). L'ensemble de l'expérience est effectuée à l'obscurité.

- 1 - cette suspension est placée dans un milieu acide tamponné à pH 4,
- 2 - après quelques minutes, le pH des thylacoïdes s'est équilibré avec celui du milieu,
- 3 - on transfère alors les thylacoïdes dans un milieu basique tamponné à pH 8 en présence d'ADP et de phosphate inorganique (Pi) (+ Mg^{2+}).

Résultat : un dosage d'ATP dans le milieu de suspension montre qu'il y a eu synthèse d'ATP.

Explication : Cette expérience est effectuée à l'obscurité. Il n'y a donc pas de transfert d'électrons, d'oxydation de l'eau ni aucune participation des photosystèmes.

C'est uniquement la différence de pH (et donc la différence de concentration en H^+) entre l'intérieur et l'extérieur des thylacoïdes qui a permis la synthèse d'ATP. C'est donc l'efflux de protons (depuis le lumen vers le milieu) à travers l'ATP synthase qui provoque la synthèse d'ATP.



Gradient de pH et synthèse d'ATP.

Le gradient de pH (concentration en H^+ entre l'intérieur et l'extérieur du thylacoïde provoque un efflux de protons au niveau de l'ATP synthase et permet la synthèse d'ATP.

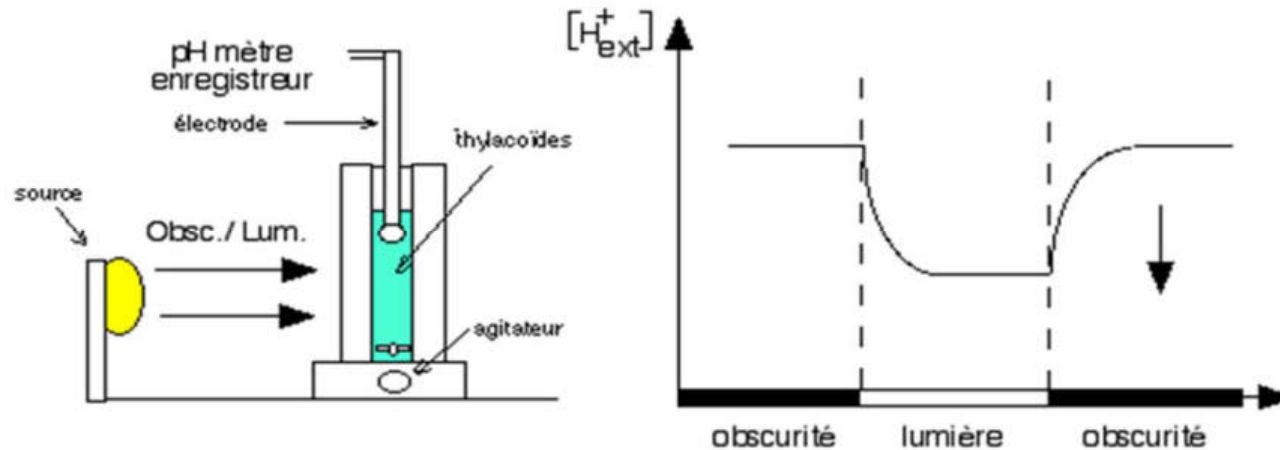
2 - La chaîne de transfert des électrons fonctionne comme une pompe à protons.

Des thylakoïdes en suspension dans un milieu faiblement tamponné sont placés dans une cuve thermostatée.

Une électrode de pH reliée à un enregistreur est placée dans la suspension qui est agitée continuellement.

Une source de lumière blanche permet de faire des transitions obscurité/lumière.

Remarque : dans cette expérience il n'y a ni ADP ni P_i donc aucune synthèse d'ATP possible.



Mouvements des protons à travers la membrane des thylacoïdes.

Dispositif pour mesurer les mouvements de protons à travers les thylacoïdes à la lumière (à gauche) et enregistrement des variations de concentrations de protons du milieu de suspension lors de transitions obscurité / lumière (à droite).

Résultats

Les résultats montrent que la lumière provoque une diminution extrêmement rapide de la concentration en protons du milieu. La variation de concentration se stabilise et se maintient constante tant que la source lumineuse reste allumée. Par contre, lors du retour à l'obscurité, la concentration en protons augmente lentement pour atteindre la valeur observée initialement.

On en déduit que le transfert des électrons à la lumière provoque un influx vectoriel de protons à travers le thylakoïde. On constate également que l'entrée (active) des protons à la lumière est extrêmement rapide

tandis que la sortie des protons (par diffusion passive) lors du retour à l'obscurité est beaucoup plus lente. Cette diffusion lente traduit la faible conductance de la membrane aux protons.

Expériences complémentaires :

- l'addition d'une faible concentration d'un agent protonophore (comme le CCCP pour carbonyl cyanide phényl hydrazone) à la lumière provoque un retour immédiat à la concentration initiale (sortie extrêmement rapide des protons du thylakoïde) ;
- l'addition de CCCP à l'obscurité empêche les mouvement de protons à la lumière (aucune variation de concentration en protons est observée).

3 - Expression du gradient de protons

En terme énergétique, le gradient de protons généré à travers le thylacoïde à la lumière correspond à une différence de potentiel électrochimique de protons. A ce titre il est constitué de deux composantes : une composante électrique ($\Delta\psi$) et une composante de concentration (ΔpH). On peut écrire l'expression :

$$\Delta\mu_{\text{H}^+} = F\Delta\psi - RT\Delta\text{pH}$$

dans laquelle $\Delta\psi$ = différence de potentiel électrique transmembranaire en V, ΔpH = différence de pH. (F est la constante de Faraday, R est la constante des gaz parfaits et T = la température en °K). La valeur de $\Delta\mu_{\text{H}^+}$ est alors exprimée en J.mol⁻¹

Le gradient de protons peut s'exprimer également en unité électrique. On parle alors de force proton motrice qui s'exprime en V :

$$D_p = D_m H^+ / F = D_Y - R T / F D_{pH}$$

qui devient à 25°C et en mV : $D_p = D_Y - 59 D_{pH}$

- Dans le cas des thylakoïdes, en état stationnaire à la lumière, le gradient de protons n'est représenté que par un D_{pH} (en raison d'une perméabilité élevée de cette membrane aux ions Cl^- et Mg^{2+}). L'expression de la force proton motrice devient : $D_p = - 59 D_{pH}$. Le pH du lumen est acide (environ 5) et celui du stroma est alcalin (environ 8). La valeur du D_{pH} est donc de 3 et la force protonmotrice d' environ -180 mV.

En conclusion, à la lumière la chaîne de transfert des électrons génère une force protonmotrice. Cette force dirige un mouvement de protons à travers l'ATP synthase, ce qui permet le fonctionnement de l'enzyme dans le sens de la synthèse (voir ATP synthase).

4 - Transport de protons à travers la membrane du thylacoïde

L'augmentation de la concentration en protons (H^+) dans le lumen du thylacoïde est réalisée grâce à :

- un transfert vectoriel de protons qui s'effectue au niveau du complexe PQ-cytochrome b6f ;
- la libération des protons due à l'oxydation de la molécule d'eau.

Que se passe-t'il dans le cas d'un transfert acyclique des électrons ?

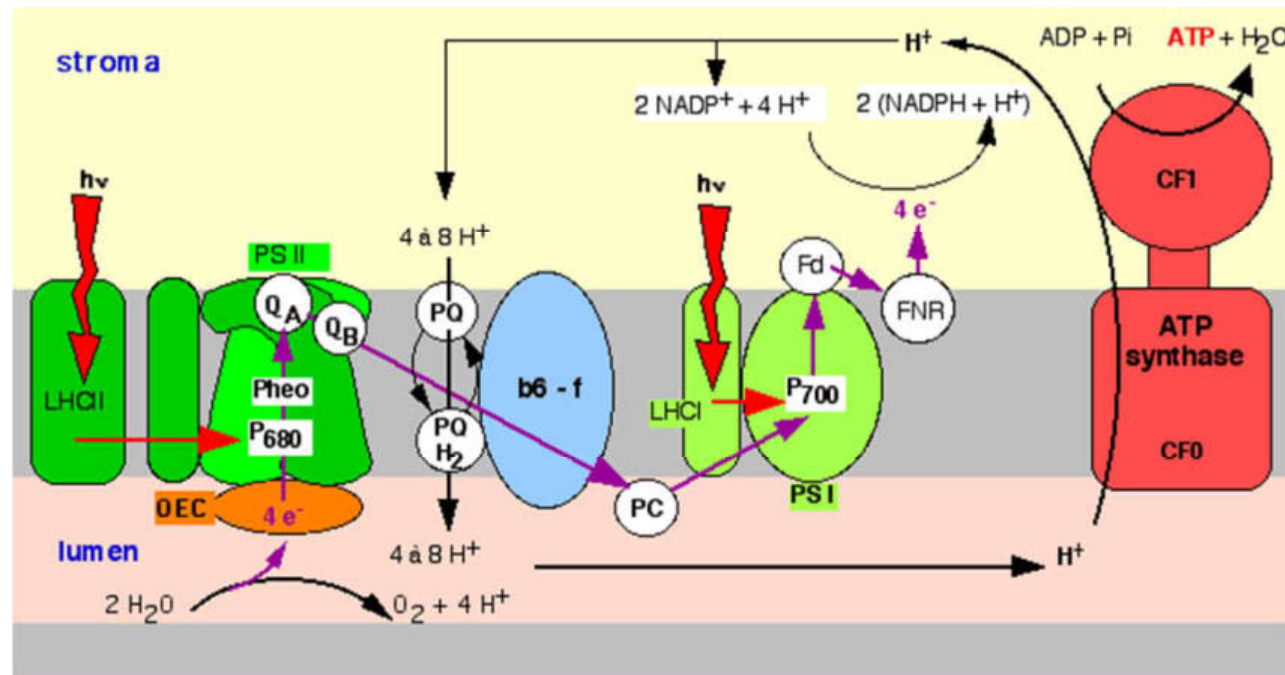
La quantité de protons délocalisés par la chaîne de transfert d'électrons photosynthétiques n'est pas connue avec précision.

On admet que le transfert des électrons au niveau du complexe b6f conduit à une translocation maximum de 4 protons par paire d'électrons lorsque le cycle Q fonctionne (Remarque 1 : le cycle Q est un mécanisme qui

permet de rendre compte d'un transport de 4 H⁺ par molécule de PQH₂ oxydée au niveau du complexe b6f. Remarque 2 : si le cycle Q ne fonctionne pas, seulement 2 protons sont délocalisés à ce niveau). De plus, 2 protons supplémentaires apparaissent dans le lumen (de manière non vectorielle) par paire d'électrons transférés au niveau du système d'oxydation de l'eau .

La quantité de protons apparus dans le lumen par paire d'électrons transférés dans la chaîne est donc de 6 (stoechiométrie H⁺/2e⁻ = 6).

Remarque importante : Dans la figure, les réactions sont établies pour l'oxydation de 2 molécules d'eau (cf. système d'oxydation de l'eau) et donc le transfert de 4 électrons dans la chaîne et la réduction de 2 molécules de NADP⁺.



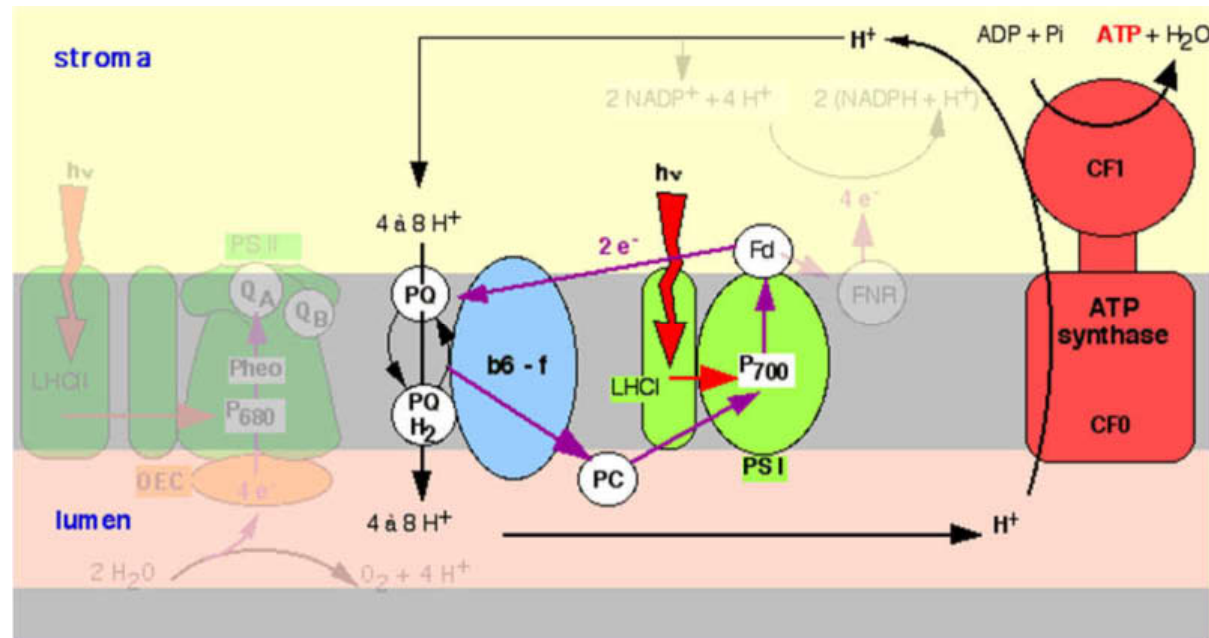
Synthèse d'ATP et fonctionnement du thylacoïde.

- Le transfert d'électrons à la lumière catalyse un influx de H^+ dans la lumière du thylacoïde qui génère un gradient de protons.
- L'efflux spontané des H^+ dans le stroma via l'ATP synthase permet la synthèse d'ATP.

Que se passe-t'il dans le cas d'un transfert cyclique des électrons ?

Dans ce cas, seule la transport de protons au niveau du complexe b_6f est concerné, ce qui donne une valeur maximale $\text{H}^+ / 2\text{e}^- = 4$.

(Même remarque que précédemment concernant la figure).



Transfert cyclique des électrons et membrane du thylacoïde.

Le transfert ne fait pas intervenir le photosystème II. Il n'y a donc pas oxydation de l'eau (à gauche) et pas de réduction de NADP (à droite). Cependant, en fonction des potentiels redox, les électrons repassent par le système des plastoquinones et des cytochromes b6f. Le couple PQ/pQH2 permet le passage d'ions H⁺ dans l'espace intrathylacoïdal et provoque un gradient de pH générateur d'ATP.

5 - Rendement des photophosphorylations acyclique et cyclique (ATP / 2e⁻)

Il est admis que la synthèse d'une molécule d'ATP par l'ATP synthase du chloroplaste nécessite 4 protons (stoechiométrie $H^+ / ATP = 4$, cf. ATP synthase).

En prenant en compte cette valeur et les quantités de protons apparus dans le lumen lors du transferts acyclique ou cyclique des électrons ($H^+ / 2e^-$) indiquées précédemment, on peut estimer le rendement optimum de la photophosphorylation ($ATP / 2e^-$) dans ces conditions, sachant que :

$$ATP / 2e^- = [ATP / H^+] \times [H^+ / 2e^-]$$

a) Cas du transfert d'électrons acyclique (PSII + PSI)

* le rendement de la photophosphorylation sera : $ATP / 2e^- = [ATP/H^+] \cdot [H^+ / 2e^-] = 1/4 \times 6 = 1,5$.

La quantité maximum d'ATP synthétisée lors du transfert d'électrons acyclique est donc de 1,5 par molécule de NADPH formé.

b) Cas du transfert d'électrons cyclique (PSI seul sans formation de NADPH)

* le rendement de la photophosphorylation sera : $ATP / 2e^- = [ATP/H^+] \cdot [H^+ / 2e^-] = 1/4 \times 4 = 1,0$.

Au maximum 1 molécule d'ATP est synthétisée dans ces conditions.

Conclusion :

Le chloroplaste assure à la fois la synthèse de NADPH (pouvoir réducteur) et de l'ATP (intermédiaire énergétique) nécessaires à la réduction du CO_2 .

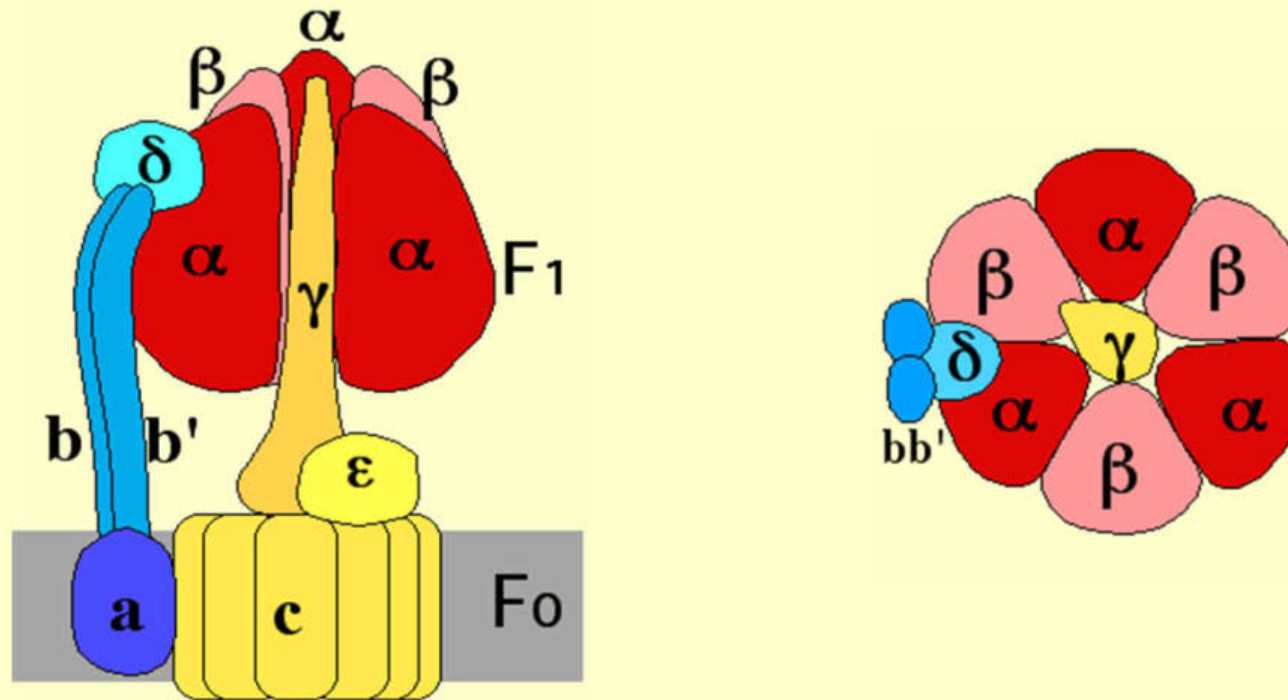
15 - Structure et fonctionnement de l'ATPsynthase



L'ATP synthase des chloroplastes (comme celle des mitochondries et des bactéries) est une ATPase de type F, encore appelée F₁F_o ATPsynthase. Cette enzyme de masse moléculaire élevée (entre 550 à 650 kDa) est constituée de deux domaines protéiques : un domaine membranaire (F_o) et un domaine extramembranaire (F₁). Lorsque le gradient de protons est favorable, l'enzyme couple la synthèse de l'ATP (à partir de l'ADP et du P_i) au flux spontané de protons qui s'effectue à travers F_o vers la face de la membrane où se situe F₁. Il est à noter que s'il n'y a pas de gradient de protons (ni potentiel de membrane ni gradient de pH) pour diriger la réaction de synthèse, la constante d'équilibre de la réaction favorise la réaction inverse d'hydrolyse (activité ATPase).

1 - Structure de l'ATPsynthase

Le domaine F₁, hydrophile, (qui fait saillie dans le stroma) comprend 5 polypeptides (sous-unités α , β , δ , γ , ϵ). La stoechiométrie des sous-unités est 3 α , 3 β , 1 δ , 1 γ , 1 ϵ .



Structure de l'ATP synthase. A gauche, vue de profil (une unité β a été enlevée pour visualiser l'unité centrale γ). A droite, vue en coupe.

- Les sous-unités α et β sont homologues entre elles. Une vue apicale par rapport à la membrane montre une organisation en anneau (hexamère) dans lequel les sous-unités α et β sont en alternance.
- La structure cristalline du F₁ établie par le groupe de J. Walker montre que la sous-unité γ forme une tige à l'intérieur de l'anneau constitué par les sous-unités α et β . A la base de la sous-unité γ (du côté F₀), on trouve la sous-unité δ et ϵ associées.

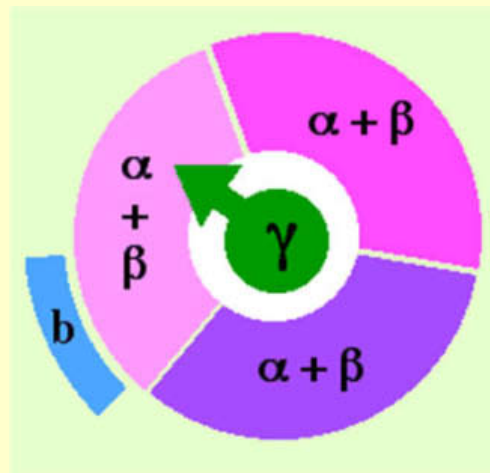
- Les 3 sites catalytiques de liaison des nucléotides sont situés aux interfaces α β avec une prédominance pour la sous-unités β .
- Chaque sous-unité α contient un site de fixation de l'ATP, mais ce site est inactif dans la catalyse (régulation).
- Les nucléotides adényliques se fixent aux sous-unités α et β avec le Mg^{2+} (cation indispensable).
- La sous-unité δ participe à la liaison de l'anneau des sous-unités α et β au domaine membranaire de l'enzyme.

Le domaine F_o est un complexe protéique intégré à la membrane. La stoechiométrie des sous-unités est 1a, bb', 10c.

Il est proposé que :

- les sous-unités c (très hydrophobes), sont formées de 2 hélices α transmembranaires. L'une de ces hélices renferme un groupement protonable, situé en position médiane, et qui réagit avec le DCCD (dicyclocarbodiimide), inhibiteur de l'ATP synthase. Les sous-unités c forment une "couronne" au sein de la membrane.
- la sous-unité a forme 2 demi canaux à protons permettant le passage des protons entre les deux faces de la membrane à l'intérieur de la bicouche. Le passage d'un demi canal à l'autre s'effectuant via les sous-unités c (cf.couplage énergétique de l'ATP synthase).

- les 2 sous-unités bb' incluent une partie transmembranaire et un domaine très polaire, qui s'étend à l'extérieur de la membrane et établissent une liaison avec la partie F1 de l'enzyme via la sous unité δ . La figure représente un modèle simplifié d'agencement des sous-unités de l'enzyme résultante des travaux de J. Walker.



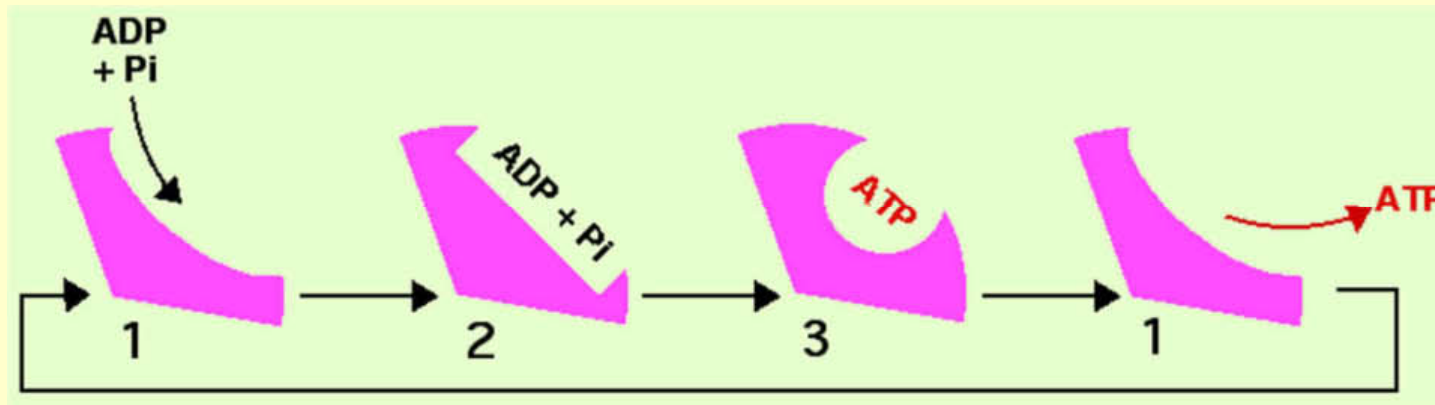
Schématisation de l'ATP synthase en coupe transversale.

2 - Couplage énergétique de l'ATP synthase.

Mécanisme de changement de liaisons (Modèle de P. Boyer)

Dans ce mécanisme, les trois sites catalytiques dans F1 changent de conformation de manière séquentielle, chacun des sites passant successivement par trois états caractérisés par des constantes d'affinité différentes pour les nucléotides. Chaque site présente respectivement :

- une conformation " relâchée " dans laquelle le site catalytique a une faible affinité (L pour "loose" dans les ouvrages anglo-saxons),
- une conformation " fermée ", dans laquelle le site catalytique a une forte affinité (T pour "tight"),
- une conformation " ouverte " (O pour "open").

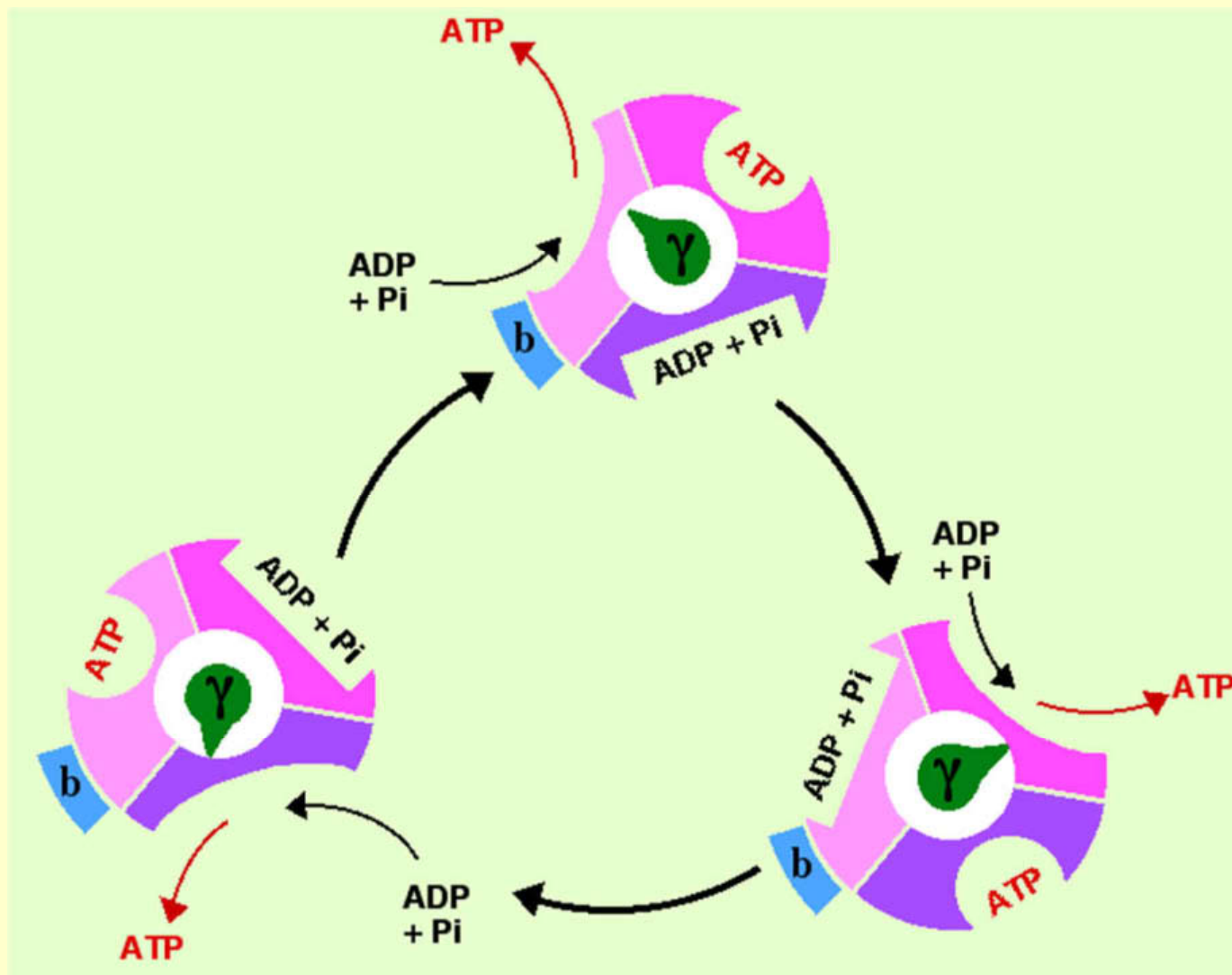


Fonctionnement de l'ATP synthase. Dans ces diagrammes seules les sous-unités β sont représentées. Chaque sous-unité β est susceptible de passer par trois états successifs :

- 1 (ouvert) - entrée de ADP + Pi
- 2 (resserré) - charge de ADP + Pi
- 3 (fermé) - formation d'ATP

Retour à l'état 1 et libération de l'ATP formé. Dans ce schéma l'état 1 a été représenté 2 fois, au début pour l'entrée de ADP + Pi, et à la fin pour la libération de l'ATP.

Il est proposé que la forme irrégulière de la " tige ", constituée par la sous-unité Υ solidaire des sous unités c au F_0 , provoque en tournant le changement séquentiel de conformation des sous-unités β . En conséquence à chaque instant, les 3 sous-unités catalytiques sont dans un état différent, comme indiqué sur la figure.

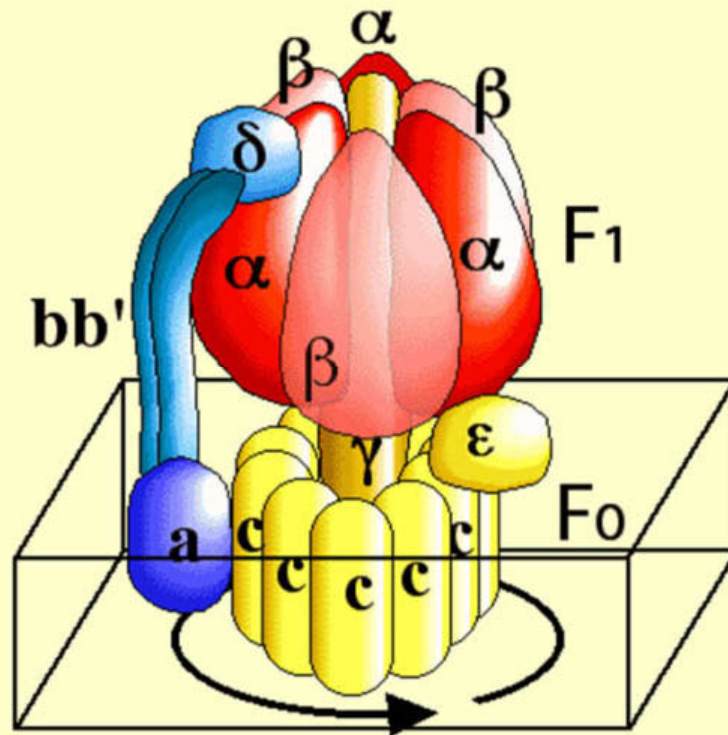


Chaque module du stator (α et β) maintenu en place par b passe successivement par les trois

états en fonction de la rotation du rotor (γ).

Au cours du cycle catalytique, une molécule d'ATP est liée à un premier site (conformation fermée), tandis qu'une molécule d'ADP et de P_i sont liées sur un second site (configuration lâche) et que le troisième site est vide (conformation ouverte). La rotation d'un tiers de tour (120°) de la tige γ , s'accompagne de la libération d'une molécule d'ATP.

Couplage entre le transport de protons et la synthèse d'ATP



Modèle schématique du fonctionnement de l'ATP synthase.
Les différentes sous unités constituant le rotor sont représentées en jaune et les différentes unités constituant le stator, en rouge et bleu. Une sous unité β du stator a été rendue légèrement transparente pour permettre de voir la tige γ .

L'enzyme fonctionne comme un moteur moléculaire dans lequel le stator est constitué par les sous-unités α et β du F₁, les sous unités b, b' et δ et la sous-unité a de F_o. Le rotor est constitué de l'anneau des 10 sous-unités c et de " la tige " interne du F₁ (sous-unité γ , δ , ϵ).

La sous-unité a sert à l'entrée des protons qui sont ensuite relayés par la couronne formée par les sous-unités c. La protonation d'une sous-unité c via le demi canal à protons situé du côté du lumen, s'accompagne, de la déprotonation de la sous unité c qui la précède, ce qui fait sortir un proton vers le stroma via le demi canal situé du côté stroma. Le jeu de l'agitation thermique et des interactions électrostatiques entre les sous unités a et c provoque la rotation de la couronne et de la tige γ . Cette rotation est à l'origine de déformations cycliques des sous unités catalytiques, et des changements de conformations et d'affinité qui conduisent à la synthèse de l'ATP.

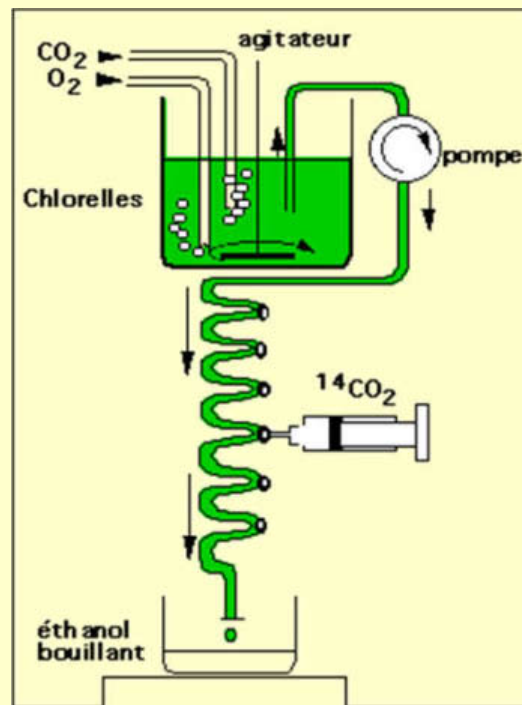
Ce mécanisme de rotation de la " tige γ ," par rapport à l'anneau formé par les sous-unités α et β a été démontré par H. Noji, R. Yasuda, M. Yoshida et K. Kinoshita. Le rotor effectue environ 130 révolutions par seconde, chaque rotation complète s'accompagne de la synthèse de trois molécules d'ATP.

16 - Quel est le premier composé formé?



Ce sont les expériences de Calvin (1952) et Bassham et Calvin (1959) qui ont permis de connaître la nature du premier composé carboné formé par la photosynthèse.

Pour connaître la signification des [différentes abréviations utilisées](#)

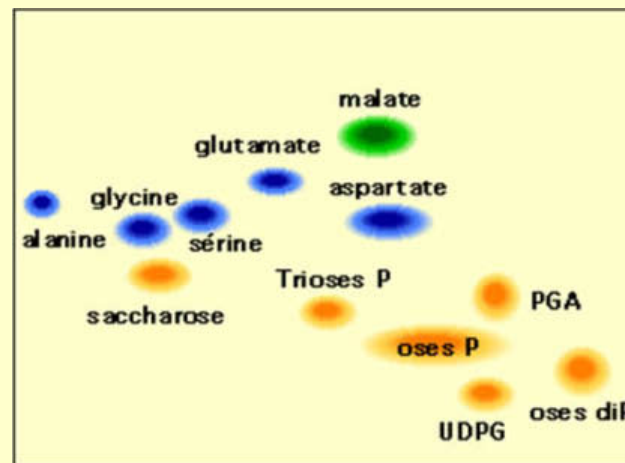


Expérience de Calvin, protocole expérimental.
En fonction du débit de la pompe, on est capable
très précisément de calculer le temps pendant

lequel les chlorelles situées dans le serpentín ont été en contact avec le CO_2 radioactif avant d'être fixées par le méthanol bouillant.

Après incubation pendant un temps variable en présence de CO_2 à la lumière, la suspension de chlorelles est fixée rapidement par l'éthanol bouillant. Cet extrait est traité de la manière suivante :

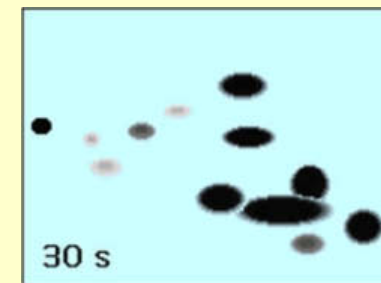
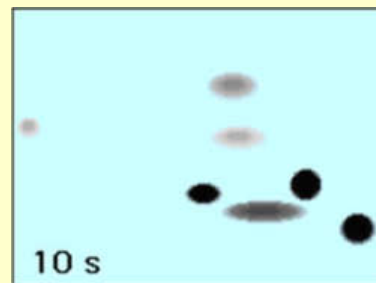
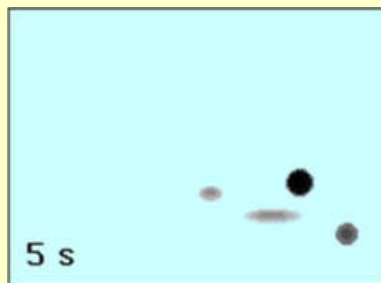
- séparation des constituants par chromatographie bidimensionnelle à l'aide de deux mélanges successifs (1-eau/phénol puis 2-butanol/acide propionique) ;
- révélation du chromatogramme par différents colorants spécifiques (acides organiques par le bleu de bromophénol, acides aminés par la ninhydrine, sucres par le naphtorésorcinol et composés phosphorylés par le molybdate d'ammonium).



Expérience de Calvin chromatographie bidimensionnelle des composés.

Une chromatographie bidimensionnelle après révélation permet de séparer les différentes substances solubles présentes dans un extrait. (Cette image n'est pas une chromatographie originale mais un schéma explicatif).

- Des chromatogrammes non colorés sont placés contre un film photographique à l'obscurité.
- Après un temps d'exposition, le film est révélé. Les taches indiquent la présence des composés radioactifs qui se sont formés.
- La comparaison des chromatogrammes colorés et des chromatogrammes révélés par autoradiographie permet de savoir quels produits ont été synthétisés au cours du contact avec le $^{14}\text{CO}_2$.

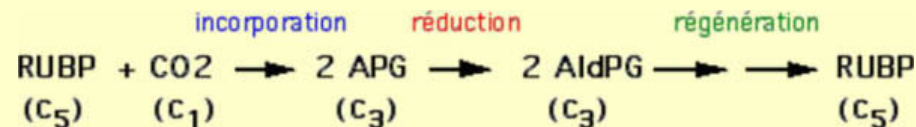


Expérience de Calvin chromatographie et autoradiographie des composés formés. Trois autoradiographies de chromatogrammes réalisés sur des extraits de chlorelles mis en contact avec le CO_2 radioactif pendant 5, 10 et 30 secondes (Ces images ne sont pas des autoradiographies originales mais des schémas explicatifs).

On constate qu'après moins de 5 secondes, c'est un composé en C3, l'APG ou acide PhosphoGlycérique qui est le premier composé formé. Ensuite, se sont des oses bis-phosphates dont un sucre en C5, le Ribulose bis-phosphate ou RUBP) puis la plupart des sucres (trioses phosphate, saccharose, ...), des acides organiques (malate, ...) et des acides aminés (glycine, ...) qui sont marqués.

- L'acide phosphoglycérique (APG) est le premier composé formé et donc est à l'origine de toutes les synthèses.
- On pourrait donc s'attendre à ce que l'accepteur du CO_2 soit un composé en C5. Or un pentose (C5) bisphosphate (le RUBP ou Ribulose bis-phosphate) peu connu apparaît rapidement dans les radiochromatogrammes. C'est donc lui l'accepteur de CO_2 .
- L'acide phosphoglycérique (APG), premier composé formé, n'est pas un sucre. Pour entrer dans les réactions de synthèse des composés organiques, il doit être réduit en trioses phosphate (ald PG ou aldéhyde phospho glycérique) qui apparaissent effectivement rapidement dans les radiochromatogrammes.
- Pour que l'ensemble fonctionne, il faut que le RUBP (qui existe en faible quantité) soit régénéré et ceci ne peut se faire qu'à partir des composés dérivés des trioses phosphate.

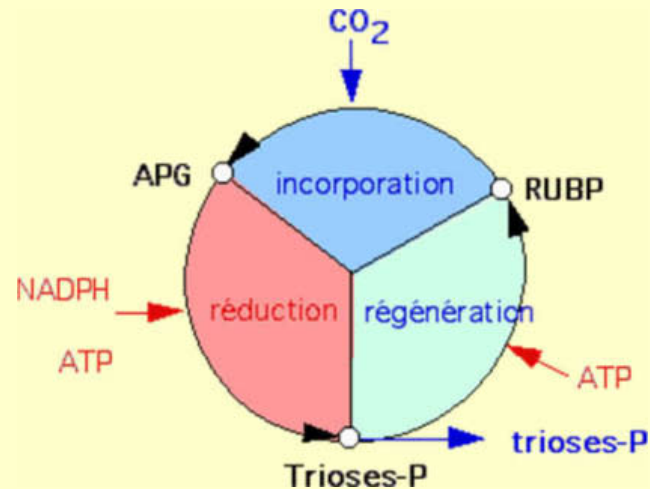
L'incorporation du CO_2 se réalise donc de la manière suivante :



Ceci peut se résumer par un cycle : le cycle de Calvin et Benson. Ce cycle comporte trois étapes :

- 1 - l'incorporation du CO_2 dans le RuBP,

- 2 - la réduction de l'APG en trioses phosphate,
- 3 - la régénération du RUBP.



Cycle simplifié de Calvin Benson.

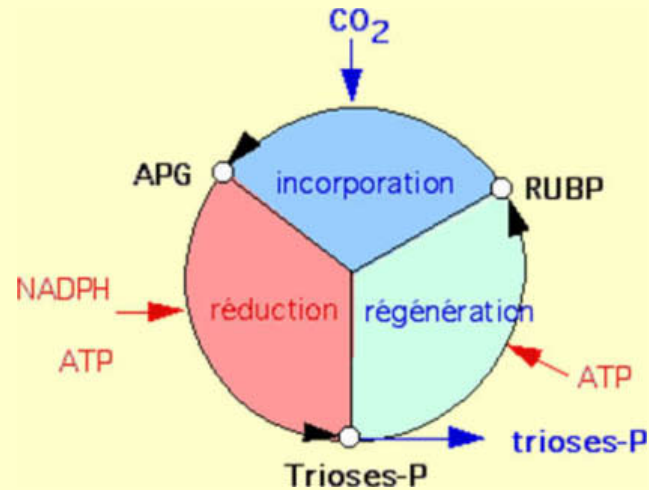
Pour fonctionner, il nécessite des intermédiaires énergétiques (ATP et NADPH) produits par la phase photochimique. Le cycle comporte trois étapes essentielles : l'incorporation proprement dite du CO_2 , la réduction de l'APG en trioses, puis la régénération du RUBP à partir d'une fraction des trioses formés.

17 - Etapes du cycle de Calvin



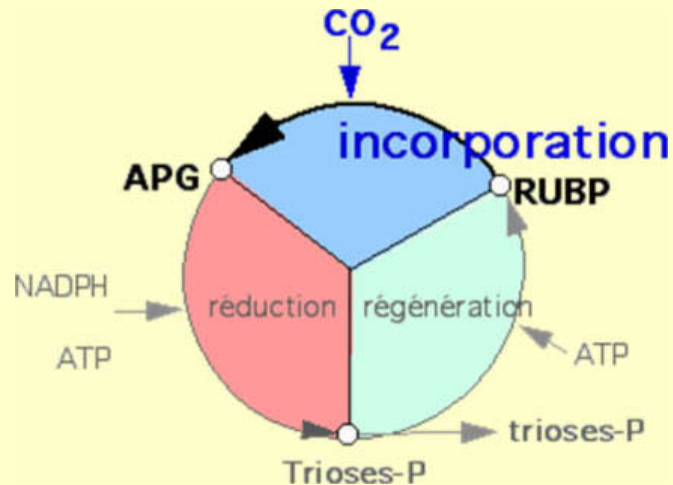
Le cycle de Calvin peut être partagé en 3 étapes essentielles :

- 1 - l'incorporation du CO_2 dans le RuBP
- 2 - la réduction de l'APG en trioses phosphate
- 3 - la régénération du RUBP



Voyons ces trois étapes successivement :

1 - L'incorporation du CO_2

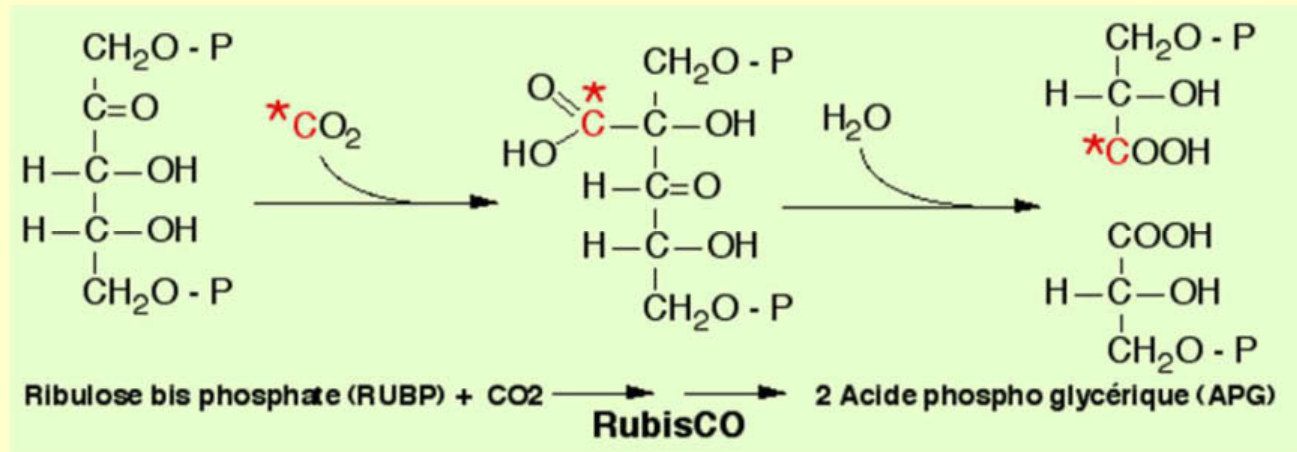


Cette réaction est catalysée par la RubisCO (Ribulose bis Phosphate Carboxylase Oxygénase).

Comme son nom l'indique, cette enzyme a deux fonctions.

C'est la fonction "carboxylase" qui nous intéresse ici. La fonction "oxygénase" joue un rôle important dans la photorespiration.

La RubisCO incorpore une molécule de CO_2 dans un composé en C5, le ribulose bis phosphate (RUBP) pour donner deux molécules d'un composé en C3, l'acide phosphoglycérique (APG), après passage par un intermédiaire réactionnel en C6.

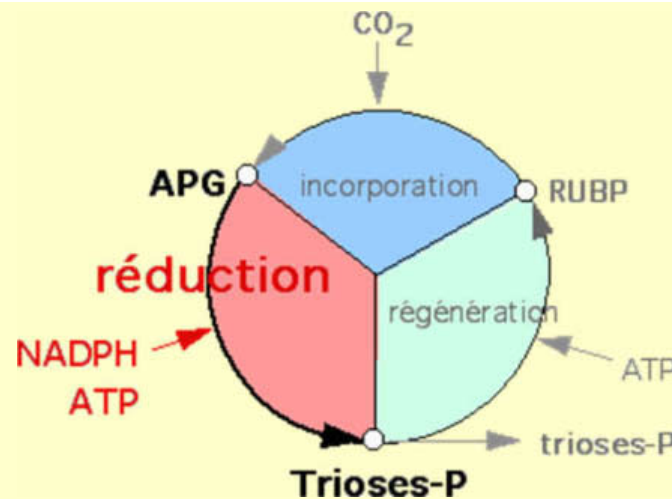


Réaction d'incorporation du CO_2 par la RubisCO.

Le carbone radioactif du CO_2 incorporé a été marqué en rouge. Un seul des deux APG est marqué.

Remarque : l'APG est un acide et non un sucre. Pour être converti en sucre, l'APG doit être réduit.

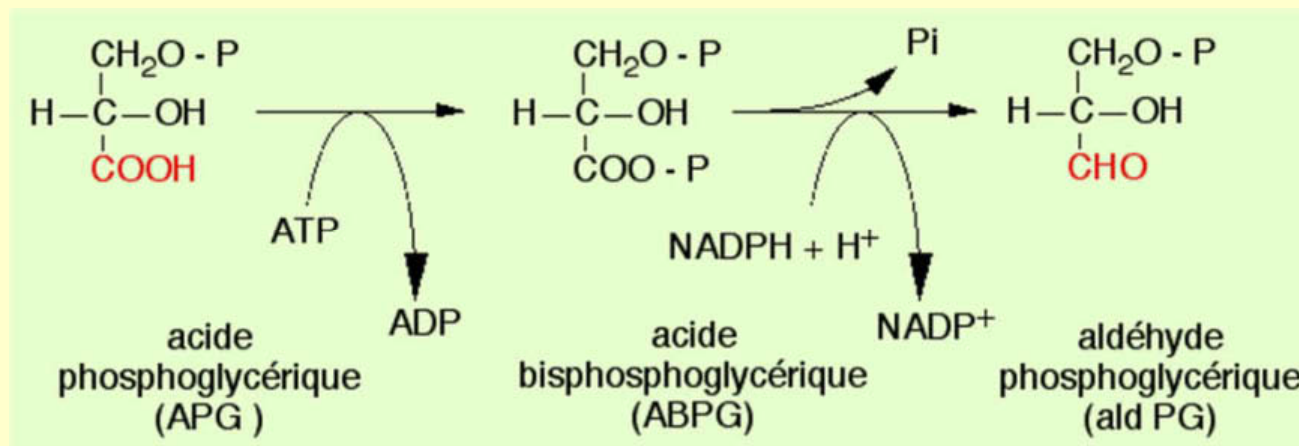
2 - La réduction de l'APG en trioses-P



L'APG, le premier composé formé par l'incorporation du CO_2 , n'est pas un sucre.

Les sucres sont des composés organiques carbonés réduits qui comportent une fonction aldéhyde ou cétone.

Une étape importante consiste donc en la réduction de l'APG.



Réduction de l'APG en aldPG (triose-P).

Elle se réalise en deux étapes catalysées par la phosphoglycérokinase (PGK) puis

par la glycéraldéhyde phosphodéshydrogénase (GAPDH).

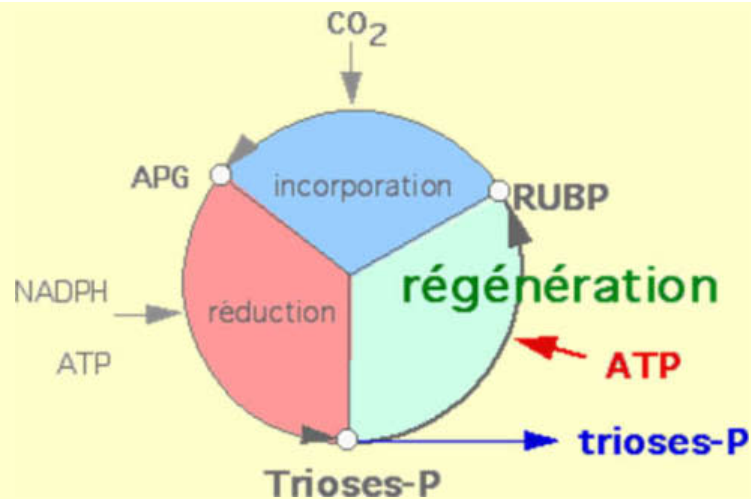
Au total on passe d'un acide à un aldéhyde à l'aide du NADPH (réduction) et d'une réaction intermédiaire faisant intervenir de l'ATP.

Isomérisation des trioses phosphate.

Une isomérisation permet de passer de l'aldPG au DHOAP. Ces deux molécules sont des trioses-P qui auront leurs rôles respectifs dans le métabolisme.

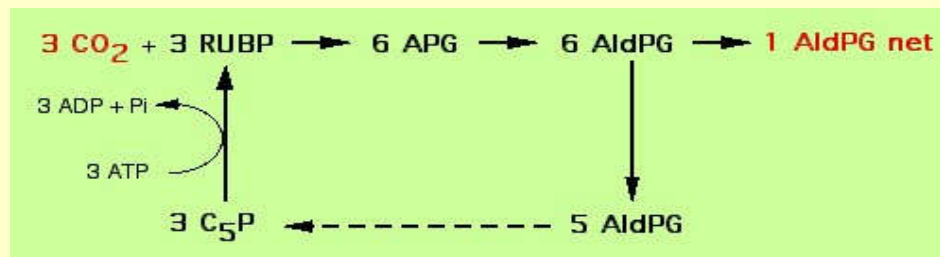
La formation de 2 molécules de trioses consécutive à la fixation d'une molécule de CO_2 nécessite donc 2 molécules d'ATP et 2 molécules de NADPH.

3 - La régénération du RUBP



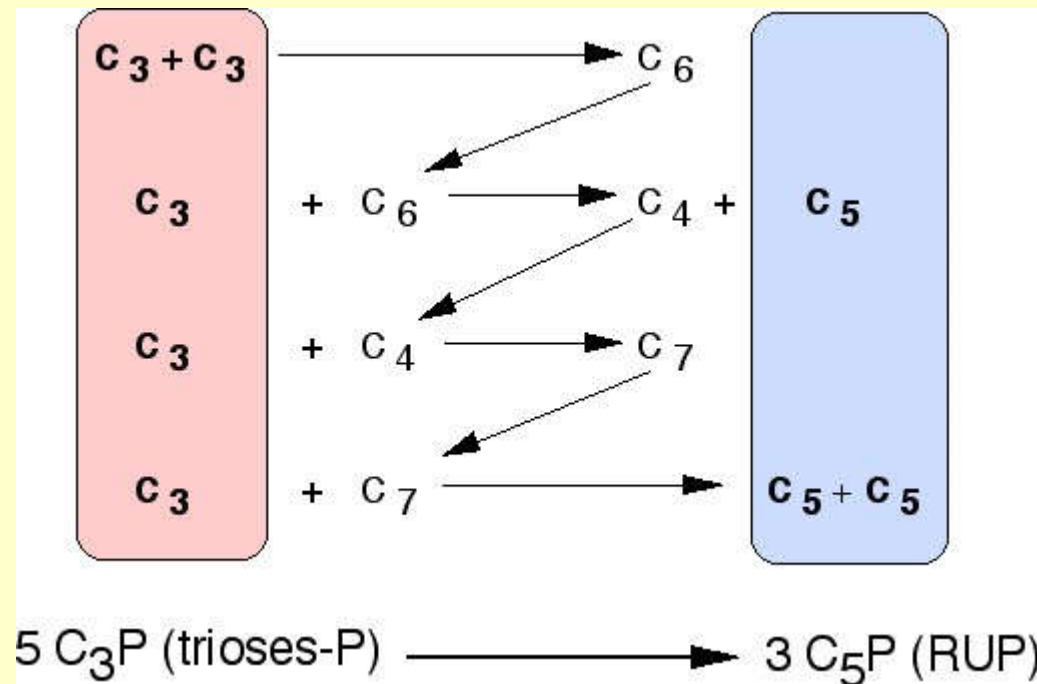
Le principemême du cycle de Calvin est de permettre la régénération du RUBP à partir d'une fraction des trioses formés. C'est la condition nécessaire qui permettra à nouveau de réaliser l'incorporation de nouvelles molécules de CO_2 .

On peut schématiser le processus de régénération du RuBP en considérant la fixation de 3 molécules de CO_2 qui conduisent à la formation de 6 trioses. Sur les 6 trioses formés, 1 triose servira à la synthèse ultérieure des sucres plus complexes, les 5 autres trioses servant à régénérer 3 molécules de RUBP,



La régénération du RuBP se réalise grâce à un ensemble de réactions faisant intervenir des sucres à nombre varié de carbones : en C6 (fructose), C4 (érythrose) et C7 (sédoheptulose).

A partir de 5 trioses phosphate (C3P) il se forme donc 3 pentoses phosphate (C5P) :



Régénération du Ribulose 1-5 bis phosphate à partir des trioses phosphate.
Les réactions de phosphorylation ne sont pas indiquées. Seuls les nombres de carbones des molécules sont pris en compte.

- A gauche : 5 trioses P (5 x 3 C = 15 C)

- A droite : 3 pentoses-P ($3 \times 5 \text{ C} = 15 \text{ C}$)
- entre les deux , les intermédiaires en C6, C4 et C7.

Finalement, les pentoses phosphates formés (RuP) sont convertis en RuBP grâce à l'ATP. Cette réaction de phosphorylation est catalysée par la Phosphate Ribulose Kinase (PRK).

La régénération du RuBP nécessite donc une molécule d' ATP supplémentaire par molécule de CO_2 fixé.

19 - Conclusion



Le mécanisme de la photosynthèse peut se partager en deux phases essentielles, indépendantes sur le plan des réactions spécifiques mais parfaitement coordonnées entre elles grâce aux intermédiaires énergétiques formés.

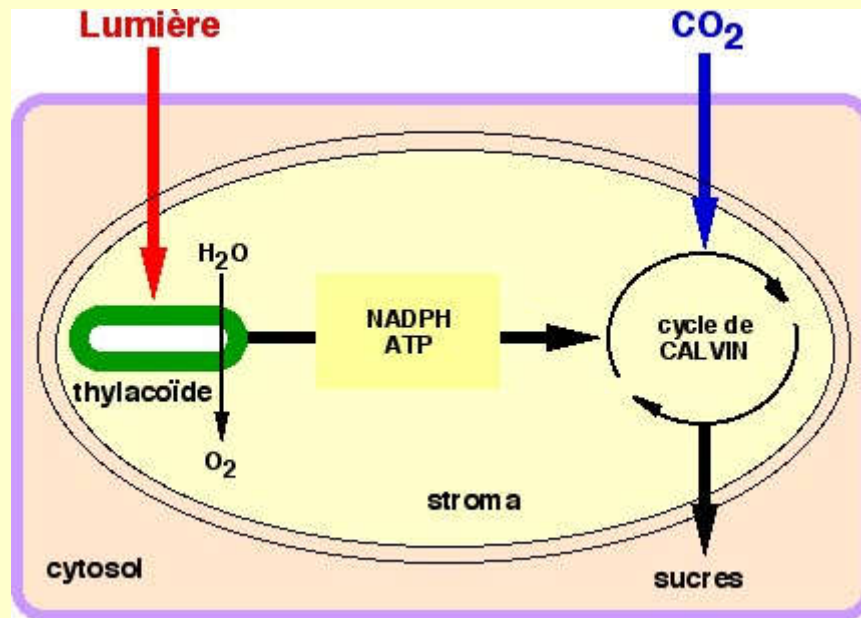


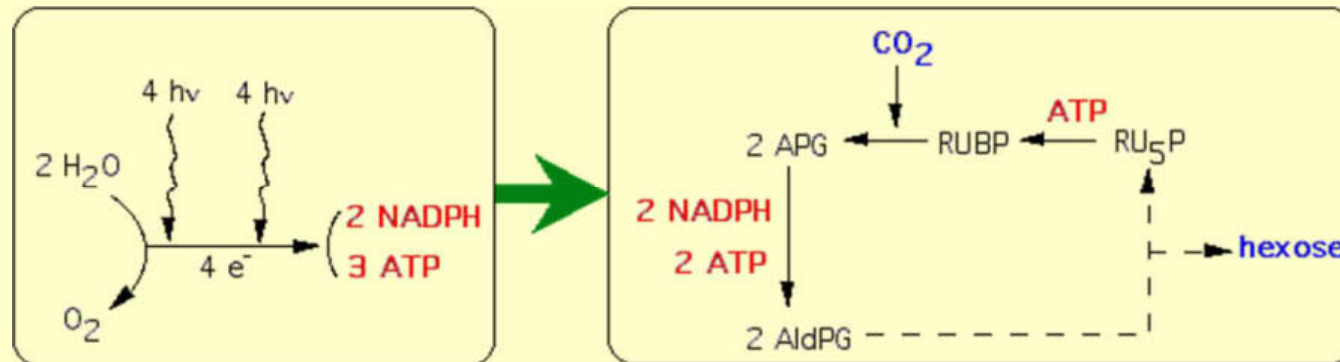
Schéma général de la photosynthèse dans le chloroplaste:

- à gauche, la phase primaire réalisée dans les membranes des thylacoïdes comprend les étapes de photochimie, de transfert d'électrons et de photophosphorylation,
- à droite, la phase biochimique (fixation et assimilation du CO₂) représentée par le cycle de Calvin dans le stroma,
- au centre, les intermédiaires présents dans le stroma.

L'ATP est un intermédiaire énergétique qui doit être continuellement reformé à partir de l'ADP (couple ADP/ATP). Le NADPH est un intermédiaire

d'oxydoréduction qui doit être maintenu continuellement à l'état réduit (couple NADPH / NADP). En d'autre terme, le NADPH et l'ATP produits par la phase photochimique permettent la réalisation de la phase biochimique mais leur régénération par la phase photochimique est indispensable à la poursuite de la phase biochimique.

Le bilan énergétique de la fixation d'une molécule de CO_2 par les plantes au cours de la photosynthèse en C3 peut être calculé:



Représentation schématique du bilan de la photosynthèse pour la fixation d'une molécule de CO_2 .

- à gauche, la phase photochimique réalisée dans les membranes des thylacoïdes,
- à droite, la phase biochimique représentée par le cycle de Calvin dans le stroma,
- les intermédiaires /NADPH et ATP produits par la phase photochimique

sont utilisés au cours de la phase biochimique.

BILAN

- 1 - La réduction de 2 APG en 2 AldPG nécessite 2 NADPH et 2ATP.
- 2 - La régénération de 1 RUBP à partir de 1 RU5P nécessite 1 ATP.
- 3 - La formation des 2 NADPH à partir de 2 NADP^+ (transfert de 4 électrons) est réalisée par l'oxydation de 2 molécules d'eau qui s'accompagne de la libération d'une molécule d' O_2 .
- 4 -Il faut 2 x 4 photons pour exciter successivement le PSII puis le PSI et permettre le transfert de 4 électrons de H_2O au NADP^+ .